FLORA

ODER ALLGEMEINE BOTANISCHE ZEITUNG

HERAUSGEGEBEN VON

DR. O. RENNER

PROFESSOR AN DER UNIVERSITÄT JENA

NEUE FOLGE. 31. BAND

DER GANZEN REIHE 131. BAND

1. HEFT

MIT 42 ABBILDUNGEN IM TEXT

Nachlaß von Prof. N. Malta

JENA

VERLAG VON GUSTAV FISCHER

1936

Flora. N. F. Band 31	Heft 1	S. 1—128, Jena, 5. 11. 1936

Inhaltsverzeichnis.

Seite

RENNER, O., Erinnerungen an K. Goebel. Zur vierten Wiederkehr seines Todestages, des 9. Oktober 1932 . . . . . V—XI

PIJL, L. VAN DER, Fledermäuse und Blumen. Mit 21 Abbildungen im Text . . . . . 1—40

SCHAEPPI, HANSJAKOB, Zur Morphologie des Gynoeceum der Phytolaccaceen. Mit 11 Abbildungen im Text. . . . . 41—59

ITZEROTT, DOROTHEA, Über die Bedingungen der Stickstoffaufnahme, vor allem der Nitrataufnahme, bei Aspergillus niger. Mit 6 Abbildungen im Text . . . . . 60—86

BÜNNING, ERWIN, Über die Farbstoff- und Nitrataufnahme bei Aspergillus niger . . . . . 87—112

STRUGGER, SIEGFRIED, Die Vitalfärbung der Chloroplasten von Helodea mit Rhodaminen. Mit 4 Abbildungen im Text . . . . . 113—128

Die „Flora" erscheint zwanglos in einzeln berechneten Heften. Je 4 Hefte bilden einen Band. Im Jahre 1937 wird ein Band ausgegeben, dessen Gesamtpreis RM 40.— nicht überschreiten wird.

Manuskripte in deutscher Sprache, völlig druckfertig in Maschinenschrift, sind zu richten an Prof. Dr. O. Renner, Jena, Botanisches Institut.

Äußerste Kürze wird allen Mitarbeitern zur Pflicht gemacht. Tabellen und Abbildungen sind auf das unumgänglich Nötige zu beschränken.

Verfassernamen sind dort, wo sie im Druck hervorgehoben werden sollen — nicht grundsätzlich, z. B. nicht bei öfterer Wiederholung — gerade zu unterstreichen, lateinische Namen sind gewellt zu unterstreichen. Die Texte zu den Abbildungen sind auf besonderem Blatt gesammelt beizugeben.

Verlag von Gustav Fischer in Jena

Die Süßwasserflora Mitteleuropas

Herausgegeben von

Prof. Dr. A. Pascher, Prag

Soeben erschien:

Heft 15:

Pteridophyten und Phanerogamen

Unter gleichzeitiger Berücksichtigung der wichtigsten Wasser- und Sumpfgewächse des ganzen Kontinents von Europa

Bearbeitet von

Prof. Dr. Hugo Glück

Heidelberg

Mit 258 Abbildungen im Text

XX, 486 S. Taschenformat 1936 RM 18.—, geb. 19.50

Beilage: Prospekt vom Verlag von **Gebrüder Borntraeger in Berlin W.,** über **„Engler's Syllabus der Pflanzenfamilien".** 11. Aufl.

Nachlaß von Prof. N. Malz
584

Erinnerungen an K. Goebel.

Zur vierten Wiederkehr seines Todestages, des 9. Oktober 1932.

Von **O. Renner.**

Seit K. Goebel, wie er sich als Schriftsteller zeitlebens nannte, Karl Ritter von Goebel, wie er sich in späteren Jahren in die Mitgliederliste der Deutschen Botanischen Gesellschaft eintrug, in den „Reigen der seligen Geister" eingegangen ist, sind der Mann und sein Werk an vielen Orten und in vielen Sprachen gefeiert worden[1]). Von dem Werk spricht die „Flora" in mehr als fünfzig Bänden vernehmlich genug. Aber weil sein Menschtum sich in der schlichten Form der wissenschaftlichen Mitteilung tief verhüllte, darf die „Flora" auch einige Züge aus dem Bild des großen und reichen Menschen festhalten, wie es seine Schüler als kostbaren Lebensbesitz in sich tragen. Ein Mensch, der lange lebt und viel erlebt, ist nicht zu allen Zeiten der gleiche. Wie die folgenden Zeilen ihn darzustellen versuchen, sahen wir ihn auf der Höhe seiner Kraft, in dem Jahrzehnt vor dem Kriege, als er in seinen Fünfzigerjahren Nymphenburg plante und schuf.

Wie Goebel am ersten Tag des Semesters in der Vorlesung vor seine Hörer trat, mit dem mächtigen Kopf auf dem mächtigen Körper und mit dem schräg über

---

1) Gedruckte Nachrufe liegen u. a. vor von:

K. Boshart in Jahrbuch des Vereins zum Schutze der Alpenpflanzen **5**, München 1933.

F. O. Bower in Nature, London 1932.

F. O. B(ower) in Obituary Notices of Fellows of the Royal Society, London 1933.*

L. Cockayne in Transactions of the New Zealand Institute, 1933.*

G. Karsten in Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft **50**, 1932.*

F. E. Lloyd in Plant Physiology **10**, Lancaster 1935.*

Thekla R. Resvoll in Nyt Magazin for Naturvidenskaberne **74**, Oslo 1934.*

W. Sandt in Mitteilungen der Bayerischen Botanischen Gesellschaft in München **4**, 1933.*

C. Schröter in Verhandlungen der Schweizerischen Naturforschenden Gesellschaft, 1933.*

F. v. Wettstein, Gedächtnisrede in der Sitzung der Bayerischen Akademie der Wissenschaften, München 1933.

Die mit * bezeichneten Druckschriften enthalten Bildnisse. Ein Bild ist auch dem 118. Band der „Flora", der Festschrift zu Goebels 70. Geburtstag (1925), beigegeben.

das Auditorium hingleitenden Blick, so ist er für seine Hörer immer geblieben: groß und fern. Die Form des Vortrags war makellos klar, die Gliederung des ohne jede Gedächtnishilfe dargestellten Stoffs unauffällig und doch scharf; die Sprechweise unverkennbar schwäbisch geprägt im Tonfall und in der Differenzierung der Diphthonge. Aber alles Persönliche, was den nicht von vornherein besonders anteilnehmenden Hörer an den Dozenten und an den Stoff heranzieht, war verschmäht. Kein temperamentvolles Bekenntnis zu den großen Streitfragen der Biologie, zu denen er in seiner Skepsis vielleicht nicht immer ein Bekenntnis für und wider zu machen hatte; in seinem Nachruf auf M. Raciborski (1917) rechnet er es diesem als Verdienst an, daß er in einer wichtigen Arbeit „Ausblicke auf Vitalismus, Mechanismus und andere unlösbare Rätsel" unterläßt. Selten ein Wort über die Leistung eines lebenden Forschers, niemals ein Hinweis auf den eigenen Anteil an dem Bestand der gewonnenen Erkenntnis, selbst zu eigenen Bildern von seinen Reisen kein persönlich gefärbter Bericht. Der resignierte Ausspruch, den wir einmal von ihm hörten: „Wenn ein Engel vom Himmel käme, um Botanik zu lesen, gingen die Mediziner doch nicht in die Botanikvorlesung", war sicher übertrieben, so wie er auch von der Wirkung seines wissenschaftlichen Werks auf die Fachgenossen zeitlebens eine viel zu skeptische Meinung hatte: viele Mediziner haben seine fünfstündige Vorlesung über Allgemeine Botanik im langen Wintersemester ganz gehört. Aber was manchen Studenten damals in seinem Hörsaal nicht heimisch werden ließ, war außer der starken Betonung der vergleichenden Morphologie, für die, trotz Goethe, der Durchschnittshörer nicht leicht zu erwärmen ist, dieses Zurücktreten der Persönlichkeit hinter dem anonymen wissenschaftlichen Gegenstand. Für Fortgeschrittene waren seine Vorlesungen, vollends wenn er einmal Zeit fand, neben dem Anfängerkolleg ein Sondergebiet darzustellen, wie Paläophytologie oder experimentelle Morphologie, ein hoher Genuß. Die einzige Weise, auf die er sich für Augenblicke seinen Hörern um einen Schritt zu nähern liebte, war die humorvolle Zwischenbemerkung, der witzige Vergleich. Aber auch im trockenen Scherz wirkte er noch so überlegen, daß mit dem nächsten Pulsschlag der gewöhnliche Abstand wieder hergestellt war.

Waren die Vorlesungen, mit ihrem Verzicht auf rednerischen Schmuck und auf Affektäußerung jeder Art, auf klare Sachlichkeit und nicht auf Begeisterung gestellt, so fand Goebel als Redner bei besonderen Anlässen doch auch andere Töne. Seine Gedächtnisrede auf seinen Vorgänger K. Ph. von Martius z. B., dessen Lebenswerk seiner eigenen Art doch nicht einmal besonders nahestand, wird in mehr als einem jungen Hörer die Begeisterung für biologische Forschung geweckt oder befestigt haben.

In den Praktika erschien der sachliche Ernst, bei der Nähe des Verkehrs am Mikroskop, fast noch gesteigert. Aber noch stärker war der Eindruck eines nicht zu überbietenden Pflichtgefühls. Semester für Semester trug er allwöchentlich die Elemente der Gewebelehre im Anfängerpraktikum mit nie nachlassender Eindringlichkeit vor und ging von Mikroskop zu Mikroskop, auch in das von dem ältesten Assistenten geleitete Großpraktikum kam er fast täglich, und Tag für Tag bot er jedem Doktoranden seinen Rat an. Dafür verlangte er von seinen Assistenten auch nicht wenig. Er lobte nie und tadelte fast nie mit Worten. Aber man war doch über sein Urteil selten im Zweifel, weil er auf vielfältige und eindringliche Weise zu blicken und zu schweigen wußte. Wenn ein Doktorand, der es an Fleiß fehlen ließ, solche Zeichen der Unzufriedenheit nicht verstand oder nicht verstehen wollte, erhielt der Saalassistent den Auftrag zu deutlicherer Mahnung. Blieb auch diese ohne Wirkung,

so lag eines Morgens die schriftliche Kündigung des Arbeitsplatzes auf dem Tisch. Scharfen Auseinandersetzungen, Auge in Auge mit dem Gegenstand seines Grolls, ging Goebel aus dem Weg.

Viel Zeit und Aufmerksamkeit widmete er den zahlreichen ausländischen Gästen: aus der Schweiz, aus Holland, Schweden, Norwegen, England, Spanien, Polen, Bulgarien, Rußland, den Vereinigten Staaten, Kanada, Britisch-Indien, Japan; für längere Zeit arbeiteten damals im Institut u. a. W. Bally, W. Vischer, W. Jongmans, O. Gertz, Th. Resvoll, M. C. Stopes, J. Clark, F. Bescansa Casares, Z. Woycicki, N. Stojanow, N. Arnaudow, J. Modilewski, B. E. Livingston, J. R. Weir, C. J. Connolly, B. Sahni, K. Fujii. Bei der Unterhaltung mit den angelsächsischen Praktikanten bediente Goebel sich gern des Englischen, das er geläufig sprach, freilich ohne sich, in echt schwäbischer Abneigung gegen wesensfremde Nachahmung, um die der deutschen Zunge nicht gemäßen Laute viel zu bemühen.

Sein Arbeitstag, der meist in den Gewächshäusern begann, war lang, und bei jeder Art von Arbeit konnte man seine Raschheit bewundern, die doch umsichtig und behutsam blieb und von flüchtiger Hast weit entfernt war. Er legte wenig Wert auf gepflegte Form seiner mikroskopischen Präparate — das Mikrotom hat er selber nie gehandhabt —, aber er sah an seinen Präparaten alles, was an dem Objekt zu sehen war, und in erstaunlich kurzer Zeit. Dazu kam die Fähigkeit, mit höchster Konzentration von einem Gegenstand zu einem beliebigen anderen überzugehen. Nur so konnte er neben der täglichen Last von Unterricht, Verwaltung, Organisation stetig an dem wissenschaftlichen Werk weiterbauen, das schon als einzige Frucht eines Forscherlebens bewundernswert wäre, nach dem Umfang wie nach der Tiefe.

Besonders genußreich war für seine Mitarbeiter die Anteilnahme, die er ihnen bei der Planung und Ausführung des Gartens und Instituts in Nymphenburg gewährte. Er ließ jedem seiner Helfer so viel Freiheit und Verantwortung, daß keiner die Freude an der eigenen Leistung verlor, und doch wußte er in allen wichtigen Fragen Maß und Art des zu Schaffenden fast unmerklich nach seinem Maß und nach seiner Art zu bestimmen, so daß das ganze Werk eben von ihm den Stempel empfangen hat, von seiner Weite und seiner Geschlossenheit, von seinem Ernst und seinem Schönheitssinn. Der Garten ist wohl so geworden, wie er ihn sich gedacht, und man kann sich auch nicht vorstellen, daß er noch schöner hätte werden können. Mit dem Institutsbau war Goebel weniger zufrieden. Er suchte nach konstruktiven Gedanken von der Zweckbestimmung der Räume, besonders der großen Mikroskopiersäle her, er erwartete dabei Hilfe von den Baumeistern, und er machte kein Hehl daraus, daß die Lösung ihn nicht recht befriedigte. Nach anderer Richtung ging ihm die selbständige Mitwirkung der Baumeister wieder etwas zu weit. Das neue Institut sollte „nicht so spartanisch" werden wie das alte, unsagbar nüchterne an der Karlstraße, aber er hätte es sich doch weniger prunkvoll gewünscht. Das farbenfreudige Mosaikgemälde von Julius Diez, das die in Marmor glänzende Eingangshalle ziert, ist vielleicht nur deshalb zustande gekommen, weil Goebel von einer Brasilienreise aus, die er nach der Vollendung des Baues zur Erholung unternahm, die Ausführung dieses luxuriösen Schmuckes nicht verhindern konnte.

Innerhalb des Instituts gab Goebel sich am persönlichsten in den Referierabenden, zu denen die Münchener Botaniker, darunter v. Tubeuf mit seinen Mitarbeitern Fabricius und Münch, Hiltner mit Kienzel, Korff, Gentner, weiter Harz, Giesenhagen, Roß, Paul, Herzog, Hegi, Kupper, Zörnig, Heilbronn, Burgeff, für kurze Zeit Kniep und Fröschel — der greise Radlkofer lebte in seiner eigenen Welt —

im Winter sich allwöchentlich, zusammen mit den jeweiligen Gästen, unter Goebels Vorsitz versammelten. Hier saß er in der Mitte des Hufeisens, zwischen den Kollegen von den anderen Instituten als primus inter pares, neben den Schülern als der nachsichtige Lehrer, an Körpergröße immer der erste, und hier gab er seiner Neigung zu geistreichem Scherz, zur Anziehung von Zitaten aus neuen und alten Klassikern und besonders aus der Bibel, viel mehr nach als in der Vorlesung. Nirgends kam die Vielseitigkeit seines Wissens wie die überlegene Sicherheit seines Urteils spürbarer zum Ausdruck als hier. Es wird wenige Veranstaltungen botanischer Institute gegeben haben, bei denen die heranwachsende Generation die Fortschritte der Botanik zwischen der Jahrhundertwende und dem Krieg in solcher Gleichmäßigkeit, von der Systematik bis zu der jungen Genetik, und unter so zukunftsicherer Bewertung erleben konnte wie in dem Halbkreis von München.

Aber am besten lernte man Goebel auf den Exkursionen kennen, die er für die Institutsmitglieder regelmäßig veranstaltete. Meist ging man auf einen Tag ins nahe bayrische oder tirolische Gebirge, seltener auf ein paar Tage weiter in die Alpen hinein oder über den Brenner, bis in die Gegend von Bozen. Nicht selten wurde dabei Material für im Gang befindliche Untersuchungen gesammelt, und solange kein Schnee lag, wurde immer eifrig botanisiert, besonders der Neulinge wegen. Dabei zeigte sich, daß Goebel nicht eigentlich ein guter Kenner der einheimischen Flora war. Er, in dem jegliche Pflanzengestalt als Typus lebendig war wie wohl in keinem Menschen vor ihm, und dem jede Pflanze des botanischen Gartens vertraut war, weil es lauter ausgewählte Typen waren, er gab sich nicht einmal Mühe, über das hinaus, was er an Typen kannte, von Spezialisten viel zu lernen, mochten es Carices oder Flechten oder selbst Moose sein. Es hatte den Anschein, als ob er bewußt vermiede, sein wunderbar treues Gedächtnis mit Einzelheiten zu beschweren, die ihm für den Augenblick nicht von besonderem Wert waren. Zu Zeiten schien ihm auch die Geselligkeit beim Wandern wesentlicher als die wissenschaftliche Beschäftigung. So machte er häufig im schneereichen Alpenwinter Ausflüge, bei denen der Rückweg vom Berg wenn möglich als Abfahrt mit dem Rodelschlitten ausgeführt wurde.

Auf den Ausflügen war Goebel nichts anderes als der ältere, freilich unendlich überlegene Kamerad. Wie stark bei solchen Gelegenheiten seine erstaunlich vielseitige Persönlichkeit selbst durch das Medium einer Sprache hindurch wirkte, die nicht seine Muttersprache war, zeigt am besten der Nachruf von Cockayne, der in Neuseeland (1898) sein Gastgeber und Führer sein durfte. Hier erzählte er von den Arbeiten, die ihn eben beschäftigten, und er bedauerte, daß er zu wenig in den exakten Naturwissenschaften gelernt hatte, als daß er hätte versuchen können, seine experimentellen Studien bis zur biochemischen Wurzel der Erscheinungen vorzutreiben; das Gefühl dieses Mangels ging mitunter so weit, daß er sich einmal — es war in einer Dankrede bei einer festlichen Gelegenheit — an modernem Maßstab gemessen geradezu als Dilettanten seiner Wissenschaft bezeichnete, allerdings auch im wörtlichen Sinn als Dilettanten, der seine Wissenschaft lieben werde bis zum letzten Atemzug. Hier, unter freiem Himmel, hörte man temperamentvolle Bekenntnisse, etwa daß die Bemühung um das „natürliche System" der Samenpflanzen ihm so aussichtslos vorkomme wie der Versuch, nach dem Münchener Karneval die Konfettischnitzel in die Tüten zu sammeln, aus denen sie ausgeflogen. Hier erlebte man das Auftauchen lamarckistischer Gedankengänge innerhalb seiner sonst neodarwinistischen Stellung zum Anpassungsproblem. Hier sprach er von verewigten und von

lebenden Botanikern, von Freunden, von Gleichgültigen und von Gegnern, von der Leistung und von der Persönlichkeit. Er unterschied streng zwischen wegweisender Forschungstat und breitem Wissenschaftsbetrieb, den er nicht viel anders einschätzte als irgendwelche praktische Tätigkeit. So fern ihm selbstgefällige Betrachtung des eigenen Opus lag, lebte er doch das Goethesche „Nur die Lumpe sind bescheiden, Brave freuen sich der Tat". Als ihn jemand fragte, wie er sich gegenüber dem neuesten Angriff eines Morphologen verhalten wolle, der sich öfters, zu Goebels Erheiterung, mit ihm maß, erwiderte er mit einer unnachahmlichen Geste, an der die ganze Hünengestalt im Schreiten teilhatte: „Man macht es so wie ein großer Hund, wenn ihn ein kleiner anbellt." Er bekannte sich als Schüler von W. Hofmeister und von A. de Bary, aber nicht eigentlich von J. Sachs. Er sprach das Wort nicht aus, aber man spürte: er fühlte sich als Freund — einer der wenigen Freunde — des großen Sachs, zu dem er als Fertiger gekommen war; in seinem Nachruf auf Sachs, 1897, nennt er sich „Schüler und Freund". Beim Wandern konnte er, der neuerdings zum Vertreter einer extrem mechanistischen Betrachtung des Lebendigen gestempelt worden ist, vom Logos in der Natur reden, oder über Dichter und Philosophen — er fand den Weg zurück bis zu Hegel, der ihm wohl einst im Tübinger Stift nahegebracht worden war, und von neuer Naturphilosophie schätzte er Bergsons Vision vom *élan vital* besonders —, selbst als Vater über Väter und Söhne. Wenn die Jungen sich für Richard Wagner begeisterten — man lebte in München und um das Jahr 1910 —, erklärte er, daß ihm Gluck neben Beethoven die höchste künstlerische Erhebung schenkte. Landschaftliche Schönheit machte ihn meist schweigsam, aber die blühende Seiseralp bei Bozen an der Wende des Juni zum Juli bewegte ihn einmal so, daß er sich laut fragte, wo er auf seinen Reisen eine ähnliche Farbenpracht gesehen; und er gab damals den südtirolischen Alpenmatten die Palme noch vor dem australischen Busch. Eigentlich erzählen hörten wir ihn von seinen großen Reisen nie, so wie er auch nie einen Reisebericht veröffentlicht hat. Wenn Buitenzorg und Tjibodas für uns Junge Worte von magischem Klang wurden, waren Giesenhagens begeisterte Schilderungen daran mehr schuld als Goebels karge Andeutungen. Einem Schüler gegenüber, der wie Goebel auf der schwäbischen Alb Botaniker geworden war, mochte er wohl ein paar Worte über die Kalkfelsen und Trockentäler um Blaubeuren fallen lassen. Aber in einer Zeit, in der Hermann Hesses „Unterm Rad" in aller Leute Mund war, verriet er wenigstens vor uns nichts über die Empfindungen, mit denen er an die Jahre im Blaubeurer Internat zurückdachte. Mochte er von W. Hofmeister auch mit aller Hochschätzung sprechen, so hätte doch niemand, der es nicht wußte, geahnt, daß es einmal einen jungen Goebel gegeben hat, der Hofmeister für die „Lebensrettung" dankte; und wenn er die Behandlung, die das humanistische Gymnasium den alten Sprachen zuteil werden läßt, als unzeitgemäß gewordenen Luxus bezeichnete, hätte schwerlich jemand vermutet, daß es Homerverse waren, die der junge Goebel zum Dank in Hofmeisters „Allgemeine Morphologie" schrieb. Immerhin hat der alternde Goebel im Vorwort seiner Hofmeisterbiographie durch die Wiedergabe dieser Verse — es sind die Worte, die Nausikaa dem Odysseus zum Abschied sagt[1]) — sich zu dem Überschwang

1) In der Voß'schen Übersetzung:
„Lebe wohl, o Fremdling, und bleib in der Heimat auch meiner
Eingedenk, da du mir zuerst dein Leben verdanktest."
Wir fanden als Studenten den griechischen Text in Goebels Exemplar von Hofmeisters Werk.

seiner jungen Tage bekannt. Auch seine kühle Haltung gegenüber der Kirche, der er sich später noch mehr entfremdete, erinnerte nicht daran, daß er sein Universitätsstudium als Theologe begonnen hatte; was davon zeitlebens blieb, war seine ungewöhnliche Vertrautheit mit der Bibel. Sein Vergangenes hatte nicht viel Anteil an seinem Heute.

Auf der Fahrt wie auf der Wanderung, und erst recht am Abend im Quartier, wußte Goebels Witz ein Gespräch über den einfachsten Gegenstand zum heiteren Spiel des Geistes zu machen. Der Pessimismus, mit dem er Leben und Menschen betrachtete, klang hier selten an; er liebte es, wenn man vergnügt war, wenn man lachte. Aber ihn selber, der in seinem Nachruf auf M. Raciborski schreibt, er glaube noch sein helles Lachen durch das Institut schallen zu hören, haben wir ganz selten laut lachen hören. Er lachte mit den hellen Augen, die auch so schneidend kalt blicken konnten; wenn es hoch kam, mit den bärtigen Lippen. Und wer dieses lautlose Lachen gesehen hat, wird es nie vergessen. Bei besonders guter Laune scheute er selbst spaßhaft theatralische Gebärden nicht. Als einmal ein selteneres Laubmoos für eine entwicklungsgeschichtliche Studie gesucht und gefunden wurde, dankte er nicht dem Finder, sondern er zog mit dem Ausdruck, mit dem der Schauspieler auf der Bühne freudige Ergriffenheit darstellt, den Hut in weitem Schwung — vor dem Moos.

Am ersten Tag nach einer Exkursion war er wieder betont kühl. Aber wir wußten nun, daß dieses Abstandhalten zu einem Teil pädagogisches Mittel war, das seine Lebenserfahrung ihm als nützlich, wenn nicht als notwendig erscheinen ließ, und getrauten uns bei besonderen Gelegenheiten auch von uns aus die Schranke zu überschreiten, die für die Werktagsbeziehungen gesetzt war, ohne daß er es übelgenommen hätte. Bei der Feier seines dreißigjährigen Dozentenjubiläums, zu der mit anderen auswärtigen Gästen auch R. v. Wettstein kam, wurde Goebel beim Festkommers in einem Theaterstück, in dem der Darwinist Hacker und der Lamarckist Petri einander nach ihrem Abscheiden — in Wirklichkeit lebten die Vorbilder damals beide noch — in einem Wärmezimmer der Hölle begegnen und sich über das Zustandekommen der Temperaturanpassung streiten, wacker gezaust. Und sogar in dem sakrosankten Referierabend mußte er, als ihm eine hohe Auszeichnung zuteil geworden war, eine Ovation erleben, deren Ton und Einkleidung alles andere als ernst war. Ein solcher Scherz mitten im ernsten Führen des Institutslebens war nur möglich gegenüber einem Lehrer, der so viel Humor hatte wie Goebel; gegenüber einem Vorstand, der als erstes fertiges Stück der neuen Nymphenburger Anlage die für das Gartenpersonal eingerichtete Kegelbahn durch ein Wettspiel mit seinen Kollegen und Schülern und durch die besondere, von dem kernigen Spiel untrennbare Art der heiteren Unterhaltung einweihte.

Wenn die Schranke gefallen war, gab es Augenblicke — wie bei der Reverenz vor der *Catharinea Haussknechtii* —, in denen manches junge Blut dem Meister gerne noch etwas anderes entgegengebracht hätte als Bewunderung und Verehrung. Aber noch wenn er seiner Umgebung so nahe kam wie er überhaupt konnte, strahlte sein Wesen etwas von der Maxime des „Auch Einer" aus, den sein Landsmann Fr. Th. Vischer geschaffen hat: „Danke, bin nicht liebenswürdig, bin zufrieden, wenn man Respekt vor mir hat." Er mußte fern bleiben, weil er zu groß war.

*

Si quis tota die currens pervenit ad vesperam satis est, schrieb Goebel dem toten Freund Julius Sachs auf den Grabstein. Er selber war noch mehr als Sachs, der zuletzt Sieche, ein *tota die currens*. Als Siebzigjähriger reiste und sammelte er noch einmal in Niederländisch-Indien, und nach ein paar Jahren noch ging ein Wort echt Goebelscher Prägung in Java um: „Alle vierzig Jahre komme ich einmal nach Java." Daß sein rascher Tod uns die Geschichte der neueren Botanik geraubt hat, die er uns zu seiner Hofmeisterbiographie hin noch schenken wollte, werden die Botaniker nie verwinden. Aber anders als aus dem *currere* heraus konnten und wollten die, die ihn kannten, sich sein Ende nie vorstellen. Und daß er sich den raschen Tod in den Bergen der schwäbischen Heimat geholt hat, von denen er ausgegangen ist, hebt diese letzte Reise in kleinem Raum, mit der er sein Leben zum Ring schloß, wie zum gewollten Symbol hinauf.

Es wird erzählt: Als sein Sterbliches zu Asche werden sollte, versank der Sarg in Blumen und Lorbeer. Aber die Schar der Männer, die die letzten Gaben des Dankes und der Ehrfurcht um die Bahre häuften, blieb stumm, wie er es gewünscht. Und wie er es gewünscht, erklang zum letzten Mal für ihn die unsterbliche Stimme des Sängers, den er am meisten geliebt, in dem „Reigen der seligen Geister".

Druck von Ant. Kämpfe in Jena.

Fledermäuse und Blumen.

Von **L. van der Pijl**, Bandung (Java).

Mit 21 Abbildungen im Text.

I. Einleitung.

Die älteste mir bekannte Mitteilung über Beziehungen zwischen Blumen und Fledermäusen befindet sich im bekannten Werke Beccaris, Malesia (Bd. III, S. 224), welches zwischen 1886 und 1890 veröffentlicht wurde. Beccari erwähnt dort, daß *Macroglossus minimus* vielleicht als Bestäuber der *Durio*-Blüten fungiert. Sogar der Gedanke eines biologischen Zusammenhanges zwischen Cauliflorie und Fledermäusen ist dort bereits zu finden; allerdings in unrichtiger Form.

Die ersten wirklichen Beobachtungen stammen von J. H. Hart (1897 von Knuth [17] publiziert). *Bauhinia magalandia* Griese und *Eperua falcata* Aubl. werden in Trinidad von Fledermäusen (*Glossonycteris geoffroyi* Gray) besucht. Indessen bleibt hier noch unklar, warum der Blütenbesuch stattfindet. Obwohl der Terminus „Fledermausblütige Pflanzen" gebraucht wird, denkt Knuth noch an die Möglichkeit, daß die Fledermäuse vielleicht nur den Insekten nachstellen und nicht speziell als Blütenbestäuber zu betrachten sind. (Man vergleiche die früheren Ideen über Kolibris und Blumen.)

Der in den Büchern immer noch paradierende Fall von Fledermausbestäubung bei *Freycinetia* wurde bereits von Porsch [24] widerlegt. Die rein zoologische Mitteilung Bartels [1] über *Agave* scheint in blütenbiologischen Kreisen unbeachtet geblieben zu sein. (Aus dergleichen für Botaniker verborgenen Quellen stammt wahrscheinlich die viel später von Porsch [28] gegebene Liste der zoologischen Beobachtungen über Fledermausbesuch an Blüten der Gattungen *Durio*, *Ceiba*, *Bombax*, *Oroxylum*, *Melaleuca* und *Caryocar*.) H. Winkler [33] vermutet, daß *Kigelia africana* durch Fledermäuse bestäubt wird. Erst 1922 ist wiederum die Rede von fledermausblütigen Pflanzen, und zwar von Porsch [25], der, obwohl er Harts Mitteilungen kritisch gegenübersteht, dennoch die Existenz solcher Blüten in den Tropen voraussagt. Im Jahre 1927 publiziert Heide [14] Beobachtungen über Fledermausbesuch an *Kigelia aethiopica* Decne und *Markhamia stipulata*.

In den nun folgenden Jahren erschienen mehrere kleinere Mitteilungen über Fledermausbesuch an Blüten von verschiedenen Pflanzen [9] [15] [4] [20] [6] [11] [8]. Weiter unten werden diese Arbeiten bei den diesbezüglichen Pflanzen referiert (*Parkia*, *Durio*, *Kigelia*, *Oroxylum*). Nur in den Notizen des Verfassers sind Angaben über Anpassungsmerkmale zu finden.

Porsch [27], der Fledermausblütigkeit bei *Crescentia* beschrieb, untersuchte die Blüten in Beziehung zu ihren Besuchern und fand die gleichen Merkmale wie ich. Als erster gab er eine scharfe Umschreibung der betreffenden Blumenklasse, deren Merkmale er folgendermaßen charakterisiert:

1. Nächtliche Blütezeit. 2. Merkwürdiger Duft. 3. Weite Blütenöffnung. 4. Größe der Blüte. 5. Außenverletzungen der Krone. 6. Trübe Farbe.

Später [28] schloß Porsch auf Grund dieser Merkmale auf die Fledermausblütigkeit der nachtblühenden Arten bei einigen neuen Gattungen. Für manche von diesen (*Parmentiera*, *Ceiba*, *Adansonia*, *Eperua*, *Bombax*, *Sonneratia*) hat sich die Erwartung erfüllt, wie weiter unten ausgeführt wird. Für *Cereus* wurde die Bestätigung von Allen erbracht [29] (S. 658).

Der Verfasser [21] [23] gab bereits früher einige Ergänzungen zu den Beispielen und Merkmalen Porschs. Im nachfolgenden werden auch diese Abhandlungen mit einbezogen, weil sie nicht leicht zugänglich sind.

II. Die Bestäuber und ihre Beziehungen zu den Blumen.

Die asiatischen, blumenbesuchenden Fledermäuse gehören zu den Megachiropteren, gewöhnlich als „die Fruchtfresser" von den insektenfressenden Mikrochiropteren unterschieden.

In Amerika aber sind einige Mikrochiropteren zur fruktivoren Lebensweise übergegangen, unter welchen es Arten gibt, die (wie auch aus Porschs Arbeit [27] hervorgeht) mittels ihrer langen Zunge imstande sind, Nektar aus den Blumen aufzunehmen. Die von Hart [17] beobachtete Art *Glossonycteris geoffroyi* Gray gehört ebenso wie die von Porsch beobachtete *Glossophaga soricina* Pall (Abbildung in [29]) zu den Langzungen-Vampyren, welche auf der Zunge lange nadelförmige Papillen tragen.

Fig. 1. *Macroglossus minimus* (auf *Kigelia* geschossen).

Nach der mir zur Verfügung stehenden Literatur scheint die Nahrung dieser Tiergruppe aber nicht einheitlich zu sein. Die Funktion dieser sonderbaren Zunge wird auch sehr verschieden aufgefaßt. Es ist möglich, daß hierbei keine scharfe Spezialisierung der Frucht-, Nektar- und Insektenfresser eingetreten ist, obschon *Glossophaga* sich an flüssige Nahrung angepaßt hat.

Vielleicht gilt das weiter unten Mitgeteilte über Bau und Funktion der Zunge bei den Megachiropteren auch für die Langzungen-Vampyre.

In Asien, Australien und Afrika kommen nur die Megachiropteren in Betracht, und zwar zumal die Subfamilie der Langzungen-Flughunde (*Macroglossinae*), auf Java die Gattungen *Eonycteris* und *Macroglossus*. Es sind dies kleinere Formen unter den Megachiropteren. Das Körpergewicht von *Macroglossus minimus* variiert zwischen 19 u. 26 g. Daß diese Formen nicht wie die Pteropinae Fruchtfresser sind, wurde schon lange vorher aus der Reduktion des Gebisses geschlossen. Nur die Eckzähne, mit denen sie sich verteidigen können, sind kräftig ausgebildet. Die übrigen Zähne sind schwach und ragen nur wenig aus dem Zahnfleisch hervor.

Die Schnauze dagegen (siehe Fig. 1) ist besser ausgebildet. Aus dieser Abbildung ist auch ersichtlich, daß die Zunge eine Umbildung erfahren hat. Sie ist sehr lang und kann bei toten Tieren ohne Mühe 3—4 cm weit aus dem Munde gezogen werden, während das Tier sie weiter ausstrecken kann, wie ich bei einem lebenden Exemplar meinte schätzen zu können, 5—6 cm. Sie trägt in einiger Entfernung von der Spitze breite und harte Hornschuppen, die oft mit scharfen Zähnen versehen sind. Ihre

Funktion ist noch nicht deutlich, da die Schuppen sowohl bei der *Pteropinae* als bei den *Macroglossinae* vorkommen[1]). Es scheint, daß sie oft mit den unten beschriebenen Papillen verwechselt worden sind. Die *Macroglossinae* und einige Arten der Gattung *Pteropus* haben nämlich an der Spitze außerdem noch nadelförmige, sehr feine Papillen (Fig. 2 b und c), die offenbar zum Nahrungserwerb in Beziehung stehen. Bartels [1] und viele spätere Autoren haben sie als scharfe Hornpapillen beschrieben und die Zunge deswegen als Borstenzunge oder Raspelzunge angedeutet. Diesem Gedanken liegt die Auffassung zugrunde, daß die *Macroglossinae* sich nur mit dem Pollen, welchen sie aus den Antheren herausbürsten, ernähren (Bartels und Heide).

Porsch dagegen meint, daß der Nektar die Hauptsache ist, und erwähnt z. B. bei *Crescentia* nichts über Pollenaufnahme, während er die Angaben und Vermutungen von Heide und van der Pijl über Pollenfraß bei *Kigelia* mit einigem Zweifel betrachtet.

Es hat sich nun ergeben, daß Pollen- und Nektaraufnahme auf Java gleich wichtig sind. Ernährungsphysiologisch ist dies sehr natürlich, und es stempelt die *Macroglossinae* zu reineren „Blumentieren" als die Honigvögel und Kolibris, die ihren Eiweißbedarf aus anderen Quellen decken.

Fig. 2. Einige Megachiropteren. $^2/_3$ nat. Gr. (schematisch). a *Cynopterus brachyotis* (juv.); b *Eonycteris spelaea*; c *Macroglossus minimus*.

Wenn Bartels [1] im Magen nur Pollen beobachtet hat, so ist dies dadurch zu erklären, daß er die Tiere vielleicht nicht frisch untersucht hatte. Ich fand immer in *Eonycteris* und *Macroglossus*, die auf allerlei Blüten gefangen wurden, sowohl Pollen als auch Nektar. Der Magen war gewöhnlich durch eine große Menge Flüssigkeit, welche die Fehlingsche Flüssigkeit stark reduzierte, sehr aufgebläht. Andererseits waren so große Pollenmengen vorhanden, daß eine zufällige Aufnahme absolut auszuschalten ist.

Dennoch hat Porsch insoweit recht, daß die Zunge dem Nektarbezug angepaßt ist. Die Raspel an der Spitze ist nämlich nur bei Alkoholmaterial hart. Bei frisch erlegten Tieren sind die Papillen weich, so daß der Ausdruck „Raspelzunge" durch „Pinselzunge" zu ersetzen ist.

Wie ich bei einem lebenden Exemplar beobachten konnte, wird durch das blitzschnelle Aus- und Einziehen der schlangenartigen Zunge der vorgesetzte Nektar sehr schnell nach innen befördert.

Die Papillen sind in Fig. 2 c viel zu grob wiedergegeben, und ihre Stelle ist nicht so eng begrenzt. In einiger Entfernung von der Spitze gehen sie in kürzere Papillen über, die auch die weitere Oberfläche der Zunge samtartig machen. Die feinen Papillen sind rückwärts gerichtet. Der Mechanismus des Aufleckens ist aus dieser Anordnung einfach abzuleiten.

Die zwei auf Java vorkommenden Macroglossinen-Arten, *Eonycteris spelaea* Dobs. und *Macroglossus minimus* Geoffr., unterscheiden sich deutlich in der Größe. *Macroglossus* (Fig. 2) mißt vom Mund bis Anus ± 7½ cm, während *Eonycteris* 12½ cm

1) Die vielen Papillenarten bei den Megachiropteren findet man abgebildet und besprochen in „Cat. of Chiroptera". Br. Mus. Nat. Hist., Vol. I, p. 723.

lang wird und viel schwerer ist, ja 85 g erreichen kann. Beide Arten scheinen den gleichen Geschmack zu haben und allerlei Blumen durcheinander zu besuchen. Einmal (siehe unter *Eugenia*) fand ich einige wenige abgebissene Antheren im Magen, und unter den 20 mir von einem Berufsjäger in Magelang (Mitteljava) gebrachten Exemplaren von *Macroglossus* hatte eins den Magen ganz gefüllt mit den winzigen Antheren einer unbekannten Pflanze. Im Magen eines *Eonycteris* (siehe unter *Ochroma*) fand ich einige Falterschuppen ohne weitere Falterreste. In den 20 oben genannten Tieren waren insgesamt zwei Milben, ein kleines Insekt und einige Falterschuppen zwischen dem Pollen anwesend. Wahrscheinlich rührt all dieses von zufälliger Aufnahme her.

Da ich Pollenproben von allen Fledermausblüten konservierte, bin ich nun in der Lage, durch Magenanalyse die besuchten Pflanzen zu determinieren.

Porsch und Heide reden von „Außenverletzungen" der besuchten Blüten. Für Buitenzorg kann ich dies wohl bestätigen, nicht aber für Bandung, wo ich meistens bei *Kigelia* symmetrische Innenverletzungen antraf. Wahrscheinlich hängt dies mit der Art der Bestäuber zusammen. In Buitenzorg schossen Heide, Docters van Leeuwen [11] und ich nur *Eonycteris*, während in Bandung nur *Macroglossus* erlegt wurden. Wahrscheinlich umfaßt der große *Eonycteris* die Blüten, während *Macroglossus*, wenn möglich, in diese hinein kriecht und so auf der Innenseite die Spuren seiner Krallen hinterläßt (vgl. *Kigelia*).

Es wurde festgestellt, daß *Macroglossus* sich tagsüber unter dürren Bananenblättern aufhält, *Eonycteris* jedoch in Höhlen. Vielleicht ist die flache Gegend um Bandung herum für *Eonycteris* als Wohnstätte ungeeignet.

Unter den Gattungen der Unterfamilie der *Pteropinae* (Fruchtfresser) erreicht der Flughund (*Pteropus*) die größten Dimensionen. Obgleich diese riesigen Tiere gerne Flüssigkeit aufnehmen[1]), sind sie für Blütenbesuch weniger geeignet, dennoch schreiben aber verschiedene Autoren, daß sie gelegentlich als Blütenzerstörer auftreten (*Freycinetia* [24], *Durio* [27]). Eine Ausnahme bildet bloß die Mitteilung Mc. Canns [7], der *Pteropus* an Blüten von *Grevillea robusta* saugen sah. Geschossene Exemplare hatten Pollen auf dem Kopfe und ihr Magen war mit Nektar gefüllt. Dieser Befund ist um so merkwürdiger, als *Grevillea robusta* ausgesprochene Vogelblumen hat.

Ein Einwand gegen die Feststellung, daß die Tiere nur Nektartrinker waren, ist daraus zu erheben, daß *Pteropus* und *Cynopterus* niemals feste Nahrung zu sich nehmen, sondern alles nur auskauen und auch aus abgebissenen Pflanzenteilen nur die Flüssigkeit schlucken (vgl. [23]), so daß selbst bei Blütenzerstörung nur Flüssigkeit im Magen gefunden wird.

Wenn Mc. Cann aber von Nektar spricht, so wird er wohl auf diese ihm bekannte Tatsache geachtet haben. (Es wird nichts über Pollen im Magen erwähnt.)

Jedenfalls ergibt sich aus dem bisher Mitgeteilten, daß Übergänge möglich sind. Porsch [41] wies bereits in anderem Zusammenhang darauf hin, daß bei der Nahrung der Weg vielfach von der Frucht zur Flüssigkeit führt. (Daß gärende Früchte und gärender Blutungssaft Zwischenstadien gewesen sind, möchte vielleicht zur Erklärung für den Geruch vieler Fledermausblüten dienen.)[2])

1) Auf Java fangen die Eingeborenen *Pteropus* mit Schlingen, welche automatisch angezogen werden in dem Augenblick, wo die Tiere den Kopf in die Bambusröhren stecken, welche zum Auffangen des Blutungssaftes der Zuckerpalmen (*Arenga*) aufgehängt sind.

2) Es ist merkwürdig, daß bei den nektartrinkenden Vögeln der Gattung *Trichoglossus* (Pinselzungenpagageien) ein ähnlicher, aber umgekehrt gerichteter

Die Gattung *Cynopterus* umfaßt viele Arten, welche alle Fruchtfresser mit kräftigem Gebiß sind. Ich sah sie nur selten Blüten besuchen und fand bei ± 30 in Bandung geschossenen Exemplaren niemals Pollen im Magen. (Siehe aber *Madhuca*, S. 27.) Van Heurn [15] beschreibt den Besuch von *Cynopterus* an Blütenständen einer *Parkia*-Art. Da diese Fledermäuse die Blüten aßen, darf man sie nicht als die echten Besucher betrachten, obgleich die Grenze zwischen Zerstörern und Bestäubern bei *Cynopterus* vielleicht nicht scharf gezogen werden kann. (Bei den Sapotaceae fungieren diese Zerstörer als Bestäuber der zu ihnen passenden Blüten.)

Mc. Cann sagt (l. c.), er habe *Cynopterus* um *Grevillea*-Blüten herumschwebend beobachtet, erwähnt aber keine Zerstörung. In anderen Mitteilungen [6] wieder nennt er *Cynopterus*-Arten Blütenbesucher. In diesem Fall ist die Artbestimmung aber unsicher, da die Tiere nicht erlegt wurden (vgl. unten bei *Bassia*, S. 29).

Da wir gerade mit der Besprechung der Fledermäuse beschäftigt sind, lohnt es sicher die Mühe, ihre Eigenschaften und Unzulänglichkeiten als Bestäuber zu betrachten, um damit die Eigentümlichkeiten der Fledermausblüten verständlich zu machen.

Die *Macroglossinae* haben große Augen, die sie im nächtlichen Dunkel benutzen können. Wie bei anderen nächtlichen Blüten (*Sphinx*-Blüten) ist auch die Mehrzahl der Fledermausblüten hell gefärbt. Da aber der Duft im Dunkeln zweckmäßiger ist, so darf man annehmen, daß viele Fledermausblüten, ebenso wie viele Sphingiden-Blüten sich von der visuellen Anlockung unabhängig gemacht haben. Porsch sah nur letzteres bei *Crescentia*. Daher sein Merkmal 6.

Die Megachiropteren haben in der stark septierten Nasenhöhle ein gut entwickeltes Geruchsorgan, welches ihnen ermöglicht, selbst in den dunkelsten Nächten ihre Beute zu finden. Es kann deshalb kaum Verwunderung erregen, daß die speziell für sie gebauten Blüten stark durften.

Da Fledermäuse sich mit ihren Daumenkrallen an den Blüten anklammern, muß die Blüte nicht nur groß sein, sondern auch fest gebaut, um nicht einzureißen. Im folgenden werden wir auch immer wieder diesem Merkmal begegnen.

Noch in weiteren Punkten bedürfen die von Porsch festgestellten Merkmale einer Ergänzung. Da Porsch die Pollenaufnahme vernachlässigte, entgingen ihm z. B. die Merkmale der Pollenproduktion bei den Fledermausblüten.

Die Megachiropteren sind insofern gute Flieger, als sie eine große Schnelligkeit zu entwickeln vermögen und ihr Flug wohl gerichtet erscheint. Dennoch sind sie aber in dieser Hinsicht einigermaßen beschränkt, da es ihnen trotz ihrer Gewandtheit schwer fällt, ins Innere einer Baumkrone hineinzukommen. Sie brauchen nämlich zum An- und Abflug einen weiten Raum. Niemals sah ich sie von Blüte zu Blüte kriechen. In einem früheren populären Aufsatz [21] habe ich bereits darauf hingewiesen, daß die Stellung der Blüten deshalb eine besondere sein muß. (Aus Nachstehendem werden wir sehen, daß es sich nicht einfach um eine negative Erscheinung handelt, wie Porsch [29] auf S. 682 meint, sondern um eine positive Anpassung.)

Obenstehende Forderung erscheint um so zwingender, als der bekannte Gefühlssinn der Fledermäuse bei den Megachiropteren weniger stark entwickelt ist als bei den europäischen Insektenfressern. Der bekannte Naturforscher Dr. Ed. Jacobson in Bandung erlaubt mir hier mitzuteilen, daß er den altberühmten Spallanzanischen Versuch

Übergang möglich ist. Im Zoologischen Garten von Surabaya werden zwei Arten mit Früchten ernährt (ich sah *Achras sapota*). Die Vögel kauen das Fruchtfleisch aus und verschlucken nur den süßen Saft.

mit teilweise abweichendem Resultat wiederholt hatte. In einem verdunkelten Zimmer wurden viele Drähte ausgespannt und an ihnen zahlreiche kleine Schellen aufgehängt. Insektenfresser berührten bei ihrem Flug durch das Zimmer keinen einzigen Draht, die Fruchtfresser aber taten dieses sehr oft, so daß die Schellen geradezu fortwährend klingelten. — Wie wichtig die exponierte Blütenstellung ist, ergibt sich aus einem Befund bei dem Fraß von *Cynopterus* an *Piper aduncum* [23]. Die Fruchtähren wurden ausnahmslos in unreifem Zustande geraubt, was den Fledermäusen wegen der exponierten Stellung nicht schwer fiel. Wenn aber ein Blatt einer angrenzenden Palme die Ähren auf einer Entfernung von 20 cm nur einigermaßen bedeckte, so kam keine Fledermaus an sie heran. (Siehe auch *Crescentia*, S. 30.)

III. Die Biologie der Fledermausblüten.

a) Amaryllidaceae.

Agave angustifolia Haw.

Auf Java eingeführt und gegenwärtig stark verbreitet. — Im Oktober 1934 konnte ich einige blühende Exemplare beobachten. Leider lagen sie an einer belebten Straße innerhalb von Bandung, so daß ich die Besucher nicht schießen konnte. Bartels [1] erbeutete auf *Agave* eine *Eoncyteris spelaea*, es ist also nicht unmöglich, daß die von mir unter den Besuchern wahrgenommenen größeren Tiere dieser Art angehörten. Die meisten waren von der Größe eines *Macroglossus*.

Jeden Abend um 8 Uhr (in Bandung wechselt das Eintreten der Dunkelheit zwischen 6¼ und 7 Uhr, bzw. im Juni und im Dezember) erschienen ganze Züge von Fledermäusen, die unter lautem Geschrei und Flügelgeklapper einige Male die Blütenstände umkreisten und sich dann einfach auf die horizontalen Teilblütenstände fallen ließen. Es war ihnen nicht leicht, diese Stellen wieder zu verlassen. Von Zerstörung war nichts zu sehen. Da Berührung der dichtgedrängten und aufrecht stehenden Narben und Staubfäden unumgänglich ist, muß bei dem Besuch Bestäubung stattfinden. Die Pflanzen trugen später reichlich Früchte.

Morgens früh konnte ich mehrmals Bienen an den Blüten beobachten. Obwohl in Amerika oftmals Kolibris und in Asien Honigvögel an den Blüten beobachtet wurden[1]), sind diese ebenso wie die von Porsch [29] aus Europa erwähnten Ratten als Schmarotzer zu betrachten. Daß die Blüten ein nächtliches Leben führen und alle Merkmale der Fledermausblüten tragen, wird aus folgendem ersichtlich. (Soweit möglich, will ich auch weiterhin stets der Reihenfolge der von Porsch gegebenen Merkmale folgen [s. S. 1] und nachher andere Besonderheiten mitteilen.)

1) Hinweisungen auf Knuth-Loew [18] habe ich nur für spezielle Fälle aufgenommen. Über die meisten besprochenen Pflanzen sind in diesem Werke Besonderheiten vorhanden.

Tagsüber bleiben die entfaltungsbereiten Blüten geschlossen. In der Nacht öffnen sie sich, worauf am folgenden Morgen die Staubfäden weit in die Luft ragen. Die Antheren öffnen sich aber erst nachmittags zwischen 5½ und 6 Uhr und sind am darauffolgenden Morgen bereits zusammengeschrumpft. Unterdessen ist der Griffel ausgewachsen. Am Ende des folgenden Tages überragt er die Perigonzipfel um 3½ cm. In der nun folgenden Nacht öffnen sich drei Spalten auf dem Griffelkopf. Ob die Narbe noch länger befruchtungsfähig bleibt, ist mir nicht bekannt, sicherlich sind die Griffel in der zweiten Nacht wieder länger geworden und noch ganz frisch (siehe Fig. 3). Dieser Rhythmus im Blütenleben der Agave ist meines Wissens noch nicht bekannt und wird von Berger [3] in seinem bekannten Buche völlig verkannt. Er nennt die unreifen Blüten „geöffnet" und die Blüten im vor-weiblichen Stadium „verblüht". — Etwa 6 Uhr abends beginnen die Blüten einen deutlichen Geruch auszuscheiden. Er ist leicht unangenehm, kohlartig und hält bis zum Morgen an.

Fig. 3. *Agave angustifolia*. 7 Uhr nachm. von links nach rechts entfaltend, im ♂ Stadium, im ♀ Stadium, im ♀ Stadium (2. Nacht).

Die Blüten selbst sind nicht groß. Die Entfernung zwischen den Perigonzipfeln und dem Ansatz der Fruchtknoten beträgt 4½ cm, der Raum zwischen den Perigonzipfeln ist gerade genügend für die Zunge des Besuchers. Die Blütenstände aber als solche sind sehr geeignet zum Landen. Die Farbe stimmt mit den früher erwähnten Merkmalen überein. Die ganze Blüte ist grün und die Antheren grüngelb mit braunroten Pünktchen. Die Pollenmenge ist beträchtlich; die Körner sind dunkelgelb und zerspringen nicht im Wasser. Die Nektarmenge ist außerordentlich groß. Ihre Ausscheidung fängt in den Blüten mit noch verschlossenen Antheren schon am Mittag an. Daß der hoch in die Luft ragende Blütenstand für den Fledermausbesuch äußerst geeignet ist, muß wohl jedermann zugeben.

Wahrscheinlich besitzen die meisten Agaven Fledermausblüten. In Bergers Buch werden viele als übelriechend beschrieben. Nur. *A. Cousii* Engelm. soll wohlriechend sein.

Die nahe verwandte Gattung *Yucca* ist stark spezialisiert und enthält wahrscheinlich keine fledermausblütigen Arten, obwohl ich in der Literatur bei einer Art einen widerlichen Geruch erwähnt fand.

b) Musaceae.

Musa.

Im Interesse der Übersichtlichkeit werden hier die gemeinsamen Merkmale der verschiedenen Arten zusammengefaßt. Einige abweichende Arten werden für sich besprochen. Betreffs der Morphologie der Blüten und der Abbildungen verweise ich auf Knuth-Loew [18] sowie auf meine diesbezügliche holländische Mitteilung [22].

Fig. 4. *Musa paradisiaca*, ♂ Blüten mit Krallenspuren (morgens).

Die männlichen und weiblichen Blüten sitzen in doppelreihigen „Kämmen" auf einer Achse, und zwar jeder „Kamm" in der Achsel einer größeren Braktee (Fig. 4). Jeden Abend, meistens kurz nach Sonnenuntergang, löst sich ein Deckblatt von der Masse der noch zusammengefalteten Brakteen und entblößt eine neue Doppelreihe. (Bei *M. textilis* Nee sind es jeden Abend zwei zugleich.)

Die Blüten bleiben nur eine Nacht frisch. Am Morgen fallen die ♂ ab, während die ♀ und die ersten ♂ Blüten (Übergangsblüten) durch das Anschwellen der Fruchtknoten zwar nicht abfallen, wohl aber verwelken. Bei der halbwilden Kulturart „pisang-batu" (prope *M. brachycarpa* Backer) sind die ♂ Blüten bereits vor 8 Uhr morgens abgefallen. Bei *M. textilis* und den meisten Varietäten der Kulturbanane (*M. paradisiaca* L. oder *sapientum* L.) bleiben sie noch einige Stunden lang sitzen. Diese abgeblühten, verfärbten und pollenlosen Blumen sind es, die in den Handbüchern abgebildet werden.

Die anfangs horizontalen Brakteen rollen sich in der Nacht zurück und fallen am folgenden Tag ab.

Die Antheren öffnen sich mit Sonnenuntergang, kurz nach der Entfaltung der Blüten (konstatiert bei „pisang-batu", bei *M. zebrina* van Houtte, der anderen Stammpflanze der Banane und ebenfalls bei *M. textilis*). Daß bei *M. paradisiaca* die Antheren sich unregelmäßig öffnen und erst um 8 Uhr den Pollen entlassen, ist wohl eine Folge der Degeneration der Pollenzellen[1]).

Bei der Entfaltung verbreiten die Blüten und Deckblätter den eigentümlichen, etwas an Kohl erinnernden Duft. Bei der wildwachsenden Art *M. zebrina* ist der Geruch besonders stark und ziemlich unangenehm.

Die Größe der Blüten entspricht nicht dem 3. Merkmal Porschs, doch können wir die ganze Infloreszenzknospe zusammen mit den Blüten biologisch als Blüte betrachten. Die Öffnungen der Blütenröhren genügen zum Durchlassen der Zunge (8 × 4 mm). Die Länge der Blütenröhre beträgt je nach dem Ort der Blüten 3—5 cm.

Helle und trübe Farben sind beide anwesend. Die hellgelben Blüten heben sich in der Nacht deutlich von den darunterliegenden und darübergestellten dunkelpurpurnen oder braunroten Deckblättern ab. Bei *M. textilis* sind die Brakteen schmutziggelb mit an der Außenseite sichtbarem braunen Anflug.

Die Nektarmenge ist so groß, daß der Nektar beim Schütteln der Blütenstände in großen Tropfen herunterfließt (siehe auch Fig. 4). In diesem Punkte stimmen die Blüten mit Vogelblüten überein, welche ebenfalls auf große Bestäuber berechnet sind. Der Nektar enthält soviel Schleimstoff, daß er bisweilen zu einer festen, gallertartigen Masse erstarrt. Obwohl er nur wenig süß schmeckt, reduziert er doch die Fehlingsche Flüssigkeit in hohem Maße.

Wie bei allen Fledermausblüten ist auch die Pollenmenge ansehnlich. Die sehr großen Körner (bis zu 160 μ) sind mit ölartigen Tropfen bedeckt (rot mit Sudan III), so daß auf den Antheren eine auffallend große, stark klebrige weiße Masse sitzt. Nur bei *M. paradisiaca* ist die Menge des Pollens infolge der Sterilität geringer.

Die hangende Stellung der Blüten macht sie für Fledermäuse besonders leicht zugänglich und die darunterliegende Infloreszenzknospe bildet einen vorzüglichen Landungsplatz.

Die Blütenstände erfreuen sich abends eines regen Besuches. Mehrmals traf ich zwei Fledermäuse zugleich aus einem „Kamm" leckend. Sie

1) Durch Kultur und Bastardierung sind die meisten Kulturvarietäten geschlechtlich deutlich entartet. Sie zeigen starke Sterilität und sind parthenokarp. Bei einer Art Mehlbanane „pisang-tanduk" fand ich die männlichen Blüten gänzlich verkümmert. Die Hauptmerkmale der Fledermausblütigkeit aber sind bei *M. paradisiaca* noch deutlich zu finden.

halten sich immmer mit den Daumenkrallen an dem darunterliegenden nächstjüngeren Deckblatt fest und bleiben mit dem Kopf aufwärts ruhig hängen. Bisweilen halten sie sich auch an den Blüten fest. Die Knospe und meistens auch die Blüten sind darum morgens mit Löchern übersät (Fig. 4).

Die drei auf *Musa* erlegten Exemplare von *Macroglossus minimus sobrinus* trugen viel Pollen am Kopf, zumal an der Oberseite, was zu ihrer Körperhaltung beim Trinken stimmt. Der unterste Staubfaden fehlt nämlich und an dieser Stelle wird die Schnauze eingeführt.

Im Magen waren stets große Mengen von Pollen und Nektar vorhanden.

Magenbefunde bei auf anderen Pflanzen gefangenen Fledermäusen beweisen, daß eine *Eonycteris* in Buitenzorg, ein *Macroglossus* in Djocjacarta, eine *Eonycteris* und viele *Macroglossus* in Magelang *Musa*-Blüten besucht hatten[1]).

Noch in einer Höhe von 1800 m fand ich auf den Blütenständen der Waldbanane (*M. zebrina*) deutliche Nagelspuren.

Wenn faulende Blüten zurückgeblieben sind, trifft man abends und morgens viele Fliegen (u. a. *Drosophila*) um den Blütenstand herum schwebend an. Aber auch Bienen und Wespen sind abends und morgens dort anzutreffen. Sogar der bekannte Schädling der Banane, *Erionota thrax* L., dessen Raupen Blattroller sind, nährt sich als Schmetterling abends vom Nektar.

Frühmorgens sind oft Nektarvögel bei den Blüten zu beobachten [18] [31], ebenso wie Spechte [10] [5]. Was diese Spechte betrifft, so glaubte ich früher auf Grund einer Magenuntersuchung [22], daß sie wegen der Insekten kämen, andererseits wurden sie aber auch bei den ornithophilen Blüten von *Bombax malabaricum* beobachtet [30], welche nur Nektar bieten. Die allgemein verbreitete Meinung, daß Bananenblüten ornithophil seien, erübrigt nach den bisherigen Mitteilungen über die Öffnungszeit, den Geruch und die Farbe noch einer weiteren Widerlegung. (Vogelblumen sind tagsüber geöffnet, duftlos und auffallend gefärbt.) Alle genannten Tiere sind als illegitime, mehr oder weniger nutzlose Besucher zu betrachten.

Musa coccinea Andr. u. a.

Diese Art weicht mit noch einigen anderen völlig von den oben beschriebenen Arten ab. Ihre Brakteen sind hell karminrot, weswegen sie vielfach kultiviert wird. Auch stehen ihre Blütenstände aufrecht. Es ist ganz überraschend, daß sie diese Merkmale mit *M. ornata* Roxb. gemeinsam hat, die ebenfalls im Berggarten von Tjibodas

1) Bandung liegt 700 m über dem Meere, Buitenzorg 250 m, Djocjacarta 106 m, Magelang 390 m, Tjibodas 1450 m.

gezüchtet wird. Andere hier vertretene Arten, die eher als subtropisch aufgefaßt werden können, sind *M. ensete* und *M. rubronervata*. Von *M. ensete* erwähnt schon Knuth [18], daß ihre Brakteen sich am Morgen öffnen. (Seine diesbezüglichen Angaben über *M. textilis* aber sind unrichtig.)

Schon früher [22] vermutete ich auf Grund der abweichenden Merkmale, daß diese Artengruppe tatsächlich Vogelblumen besitzt.

Herr C. van Woerden, Hortulanus des Berggartens von Tjibodas, hatte die Freundlichkeit, auf meine Bitte hin die Blüten von *M. coccinea* zu untersuchen. Es stellte sich dabei heraus, daß es sich hier um Tagblüten handelt, welche um 10 Uhr vormittags noch geschlossen und um 4 Uhr nachmittags bereits bestäubt sind. Krallenspuren waren nicht zu sehen, auch duften die Blumen nicht. Schließlich haben die Blüten eine echte Vogelfarbe, und zwar orange mit grünem Rande (vgl. *Aloë*).

Die nördlicheren (subtropischen) Arten sind also richtig ornithophil. Nektarvögel sind (auch in Tjibodas) auf ihren Blüten bereits sehr oft beobachtet.

Es werden auch *Musa*-Arten mit aufrecht stehendem Blütenstand, aber mit trüben Farben erwähnt. Diese konnte ich bisher nicht untersuchen.

c) Leguminosae.

Parkia.

Die auf Java vorkommenden *Parkia*-Arten stellen einander sehr ähnliche hohe Bäume dar. Obgleich manche von ihnen eingeführt sind, zeigen sie alle den gleichen Blütentypus. Die Blüten sind sehr klein und stehen in dicht gedrängten Köpfchen an den Enden von langen Stielen (Fig. 5 und 6). Der Blütenstand als solcher ist 7 cm lang. Der basale Teil enthält geschlechtslose Blüten mit hellgelben Staminodien; der mittlere Teil dagegen braune, männliche und der apikale gelbe, zweigeschlechtige Blüten. Bei beiden letzteren bilden die Staubfäden den Schauapparat. Die Blüten öffnen sich nach Sonnenuntergang. Die Staminodien verbreiten schon vor dieser Zeit einen deutlichen Geruch und sind schon sichtbar. Am Morgen sind alle Blüten verwelkt.

Fig. 5. *Parkia speciosa*. Blühende Zweige.

Anfänglich hielt ich die Blüten für honiglos, eines Abends aber waren nach 8 Uhr an einem abgeschnittenen Blütenstand große Honigmengen sichtbar. Der Honig quoll in milchigen Tropfen aus den männlichen Blüten hervor (siehe Fig. 6). Er wird durch die Staminodien wie unter einem Dache geschützt.

Fig. 6. *Parkia speciosa.* Nektarabscheidung um Mitternacht.

Die Stiele der Blütenstände sind zähe und stark.

Die Pollenmengen sind sehr ansehnlich, die Körner groß und zusammengesetzt (im Wasser ± 100 μ).

Der unangenehme Geruch ist hier schwer zu definieren. Um so typischer aber ist die Stellung der Blütenstände, welche an allen Seiten, meist hängend, aus der Krone hervorragen.

Danser [9] beschreibt, er habe beobachtet, wie kleine Fledermäuse sich, den Kopf aufwärts gerichtet, an den Blütenständen aufhängten und diese ohne Zweifel bestäubten. Später erwähnt van Heurn [15], daß er bereits früher Fledermausbesuch beobachtete, und zwar von *Cynopterus brachyotis javanicus* And. Nach van Heurn fressen die Tiere die zweigeschlechtigen Blüten völlig auf, wenn sie mit dem Kopf nach unten an den Blütenständen hängen.

Docters van Leeuwen [11] sah im Botanischen Garten in Buitenzorg, daß die Fledermäuse sich mit aufwärtsgerichtetem Kopfe niederließen, und schoß eine *Eonycteris spelaea*. Weitere blütenbiologische Beobachtungen werden in diesen kurzen Notizen nicht erwähnt.

Ich konnte in Buitenzorg bei dem Baume Dansers wiederum öfters Besuch wahrnehmen, stets aber ohne daß die Tiere fraßen. Ein auf dem Blütenstand erbeuteter *Eonycteris* hatte nur Nektar und Pollen im Magen. Bei der beobachteten Haltung der Tiere ist es ihnen leicht möglich, den Nektar aufzulecken und durch extremes Ausstrecken der Zunge auch den Pollen der zweigeschlechtigen Blüten zu erreichen.

Daß der Bauch und die Oberseite des Kopfes beim geschossenen Tiere mit einer dicken Pollenschicht bedeckt war, stimmt mit der beobachteten Haltung überein. Bestäubung kann dabei nicht ausbleiben. Ich fand im Magen auch einige *Musa*-Pollenkörner. Es fiel mir auf,

daß der vordere Teil des Magens Flüssigkeit enthielt und der hintere Teil nur Pollen.

Es wird deutlich sein, daß *Eonycteris* und *Macroglossus* die legitimen Bestäuber der *Parkia*-Arten sind.

Calliandra Guildingii Benth.

Aus Trinidad wurde ein Exemplar im botanischen Garten eingeführt. Die Blütenstände haben das gleiche Äußere wie jene des benachbarten Exemplars von *Calliandra haematocephala*, die besonders schöne Vogelblüten trägt. Es sind dies die bei den Mimosaceae üblichen Köpfchen mit etwa 30 kleinen Blüten, deren Filamente weit hervorragen. Bei *C. Guildingii* sind letztere 7 cm lang und länger als bei *C. haematocephala*.

Es gibt aber zwei belangreiche Unterschiede: erstens, daß bei *C. Guildingii* die untere Hälfte der Filamente weiß gefärbt, bei *C. haematocephala* aber gänzlich feuerrot gefärbt ist, und zweitens, daß die Blüten bei *C. haematocephala* bei Tag frisch sind und am späten Nachmittag welken, während sie bei *C. Guildingii* gerade tagsüber mit ihren schlaffen Filamenten einen traurigen Eindruck erwecken.

In den drei großen zentralen Blüten bilden sich nach 7 Uhr abends große Mengen von Nektar. Zu dieser Zeit strecken sich die Filamente und öffnen sich die Antheren, wobei die merkwürdigen Pollengruppen (acht pro Anthere) freikommen. Obgleich *C. Guildingii* also Nachtblumen besitzt und die Blüten aus der Krone hervorragen, gehören sie doch nicht zum Fledermaustypus, da der entsprechende Pollenreichtum und Geruch fehlt. Das Vorhandensein einer Farbe erscheint mir hierbei nebensächlich. Ich konnte trotz steter Überwachung während aller Jahszeiten niemals Fledermausbesuch konstatieren. Daß ich die Art hier dennoch anführe, geschieht bloß darum, weil Porsch [28] in der Gattung *Calliandra* fledermausblütige Arten vermutete.

Daß die Fledermausblüten aus Trinidad abweichende Eigenschaften zeigen sollen, ist unwahrscheinlich. Vielleicht ist unsere Art bestimmten, abends fliegenden Vögeln angepaßt.

Eperua falcata Aubl.

Weil Hart Besuch von Fledermäusen bei dieser Pflanze beschrieben hat, war ich sehr erfreut, sie im botanischen Garten blühend anzutreffen.

Die Stellung der Blüten an meterlangen, drahtförmigen Stielen (Fig. 7) war so kennzeichnend, daß ich sofort an ihre Chiropterophilie glaubte. Dazu kam noch ihre nächtliche Öffnung (Anfang 5 Uhr nachm.) und der charakteristische Duft (wie bei *Durio*), der aber viel schwächer war als üblich.

Die Antheren sind sehr groß und die Nektarmenge stimmt ebenfalls mit dem Typus überein. Oberhalb der dorsalen Staubgefäße entstand nach 6 Uhr ein großer Nektartropfen, zwischen den Filamenten und dem oberen Kronblatt festgehalten. Die Abscheidung des Nektars geschieht im hohlen Blütenboden, der eng um die Fruchtknotenbasis herumschließt. Nach Sonnenuntergang öffnen sich die Antheren. Der Durchmesser der Blüte ist nur 2 cm, aber durch die gespreizte Stellung der Staubblätter

beträgt die Distanz zwischen den Antheren 7 cm, so daß nur ein größerer Bestäuber in Betracht kommt. Die Farbe (hellrosa) stimmt weniger mit dem Typus überein (vgl. *Dombeya* S. 25).

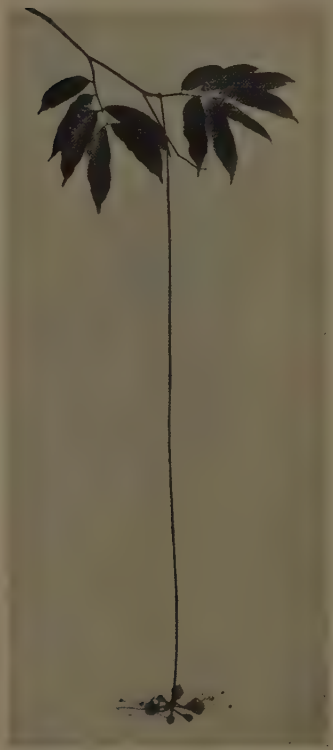


Fig. 7. *Eperua falcata*. 5½ Uhr nachm.

Am 30. Juli 1935 konnte ich einige kleine Fledermäuse von der Größe eines *Macroglossus* bei und auf den Blüten beobachten. Nach jedem Besuch pendelten die Blüten noch lange hin und her.

Bauhinia.

Angesichts der Mitteilung Harts über *Bauhinia magalandia* war es notwendig, die auf Java wachsenden Arten zu untersuchen. Ich fand bei ihnen in Buitenzorg keine Anzeichen der Chiropterophilie.

Die Beobachtungen Harts sind dennoch wahrscheinlich richtige Beweise für die Fledermausblütigkeit seiner Art, um so mehr, als nach Lindman [27] *B. Bongardi* Stend. nächtliche Anthese hat und die Blüten einen unangenehmen kohlartigen Geruch verbreiten.

d) Bombacaceae.

Adansonia digitata L.,
Baobab oder Affenbrotbaum.

Auf Grund der von van Harreveld-Lako [13] über die Blüten eines Exemplares aus Pasuruan (Java) mitgeteilten Besonderheiten konnte ich [21] Porschs Vermutung über ihre Fledermausblütigkeit tatsächlich bestätigen. Die Blüten sind weiß, tragen eine dickfleischige Krone, blühen in der Nacht und haben einen unangenehmen Geruch. Sie sind sehr groß (15 cm lang) und hängen an langen Stielen frei in der Luft. Die schöne Abbildung van Harrevelds zeigt dies besonders deutlich. Ich verweise auf ihre Wiedergabe in Cammerlohers „Blütenbiologie I“ (1931) S. 175. Auf Figur 10, welche mir ebenfalls von Frau Dr. van Harreveld-Lako freundlichst überlassen wurde, sind sogar

Verletzungen zu erkennen, welche nicht anders als durch Krallen verursacht zu deuten sind.

van Harreveld-Lako erwähnt nichts über den Nektar. Werth[31] nennt *Adansonia* honiglos. Wenn diese Angabe der Tatsache entspräche, so wäre *Adansonia* als eine noch zu erklärende Ausnahme unter den Chiropterophilen aufzufassen. Vermutlich liegt aber der Honig verborgen.

Herr H. Altmann zu Pasuruan teilte mir brieflich mit, daß er einen sehr regen Besuch von kleinen Fledermäusen an den Blüten habe wahrnehmen können. Er charakterisiert den Geruch wie von überreifen Melonen (also süß und an Gärung erinnernd). Seine Meinung, der Besuch könne keine Kreuzbestäubung verursachen, weil die Fledermäuse immer an der der Narbe gegenüberliegenden Seite anfliegen, bedarf noch der Nachprüfung. Die Möglichkeit, daß die besuchenden Fledermäuse die Narbe mit ihrer Flughaut oder sonstwie nicht berühren, ist m. E. nicht groß. Eine nähere Untersuchung der Narben und der Fledermaushaut ist deshalb sehr erwünscht. Durch die Stellung der Narbe ist Selbstbestäubung wohl nicht leicht möglich, obgleich Herr Altmann beobachtete, daß der Pollen bei Berührung der Blüte leicht aus den Antheren heraus stäubt. Jenes Exemplar in Pasuruan trägt im Januar (in der Regenzeit also) zugleich Blätter und Blüten und nachher reichlich Früchte. Nach „Flora of Tropical Africa" erscheinen in Afrika die Blüten im Mai, und zwar vor den Blättern.

Fig. 8. *Adansonia digitata*, mit Krallenspuren. 1/2 nat. Gr. Morgens (Aufnahme van Harreveld-Lako).

Bei anderen Arten darf man vielleicht Ornithophilie voraussetzen, da z. B. *A. madagascariensis* rot gefärbte Staubfäden und Griffel besitzt.

Ceiba pentandra (L.) Gaertn.

Diese Pflanze konnte ich bereits früher ausführlich besprechen [22]. Ihre Blüten (Fig. 11) öffnen sich kurz nach Sonnenuntergang (Anfang Oktober um 6½ Uhr nachm.) und sind am nächsten Nachmittag abgeblüht. Die Größe ist geringer als bei vielen Fledermausblüten, der Durchmesser beträgt etwa 3 cm. Dieses von Porsch aus den Befunden bei

Crescentia, *Markhamia* und *Kigelia* abgeleitete Merkmal hat aber keine so große Bedeutung, da die Fledermäuse ihren Kopf nicht immer in die Blüte stecken müssen wie bei jenen.

Der Geruch ist unangenehm säuerlich, wie bei *Kigelia*. Die Kronblätter sind bei der auf Java gezüchteten Varietät weiß und sehr fest und werden oftmals am Morgen von vielen kleinen Löchern durchbohrt angetroffen.

Der Kelch trägt an der Innenseite einen dichten Filz aus Drüsenhaaren und Borsten, aus welchem sehr viel Nektar ausgeschieden wird. Dieser kann, obgleich die Blüten hängen, nicht nach außen abfließen, weil die Kelchblätter an die Kronblätter fest angeschmiegt liegen. An ihrer Basis schließen sich diese letzteren nicht zusammen, so daß der Nektar am Blütengrunde zum Vorschein tritt, und von der Zunge leicht erreicht werden kann.

Fig. 9. *Ceiba pentandra*. 7 Uhr nachm.

Pollen ist ziemlich reichlich vorhanden. Die Körner messen 60 bis 70 μ (im Wasser) und sind wie bei der *Musa* von einer gelben, öligen Substanz bedeckt, welche sie aneinander kleben macht.

Die Stellung der Blüten an den Enden von kurzen Seitensprossen (Fig. 11) macht sie zum Anfliegen sehr geeignet. Dazu kommt noch, daß die größeren Äste durch den eigentümlichen Etagenbau beträchtliche Räume zwischeneinander freilassen und die Bäume in entblättertem Zustand blühen. Die Fledermäuse fliegen deshalb mit Leichtigkeit durch die dünne Krone.

Nahe bei Bandung konnte ich jeden Abend zwischen 7 und 8 Uhr an allen untersuchten Bäumen Fledermausbesuch feststellen. Die Tiere hingen, die Bauchseite nach oben, an den Blüten, wobei sie die Narbe und die Antheren berühren. Bereits nach sehr kurzer Zeit fand ich die Narbe mit Pollen belegt und die Antheren entleert.

Die drei Exemplare von *Macroglossus*, welche ich in Bandung auf *Ceiba* fangen konnte, hatten sowohl Pollen als auch Nektar im Magen

und waren auf Kopf und Bauch mit Pollen bedeckt. Zufällige Pollenaufnahme im Magen der Tiere ist hierbei völlig ausgeschlossen. In Mittel-Java, das klimatisch von West-Java abweicht, schoß ich in der Nähe von Djocjacarta ebenfalls einen *Macroglossus minimus*. Ein Berufsjäger in Magelang (nicht weit entfernt von Djocjacarta, aber etwas höher gelegen), übte seine Tätigkeit am liebsten unter *Ceiba*-Bäumen aus und brachte mir 20 Stück *Macroglossus* und *Eonycteris*, die alle *Ceiba*-Pollen gefressen hatten.

Herr Dr. M. Bartels jr. teilte mir mit, er habe bereits vor 15 Jahren Fledermäuse auf *Ceiba*-Blüten beobachtet (was übrigens den meisten Eingeborenen bekannt ist). Die Tiere flogen zwischen einem *Ceiba*- und einem *Durio*-Baum hin und her. Auf letzterem schoß er eine *Eonycteris spelaea*, so daß es ihm sehr wahrscheinlich erscheint, daß auch *Eonycteris Ceiba*-Blüten besucht, obgleich auf den ersten Blick die Blüten dazu zu schwach erscheinen.

Die Angaben Werths [31] über den Bau der Blüten bedürfen einiger Verbesserungen. Die Kronblätter sind abends bloß einen Augenblick horizontal ausgebreitet und klappen sofort zurück, so daß seitliche bauchige Vorwölbungen entstehen, welche das Anklammern sehr erleichtern. Werth hat wahrscheinlich am Morgen die mehr oder weniger verwelkten Blüten mit horizontalen Petalen untersucht. Die Angabe, der Nektar werde an der Basis der Kronblätter abgeschieden, wurde bereits oben korrigiert. In der Werthschen Arbeit wird *Ceiba* als ornithophil betrachtet, welche Meinung anfänglich auch Porsch teilte. Winkler [33] sah bereits früher Honigvögel als häufige Besucher.

Obgleich ich nicht daran zweifelte, daß die abweichenden und unnatürlichen Verhältnisse der Kapokanlagen (s. unten) für die Fledermäuse viele Schwierigkeiten bieten müssen, nahm ich an [22], daß diese für die Kultur Bedeutung haben müßten. Diese Annahme hat die Redaktion der Zeitschrift „De Tropische Natuur", veranlaßt in einer Nachschrift auf Grund von unpublizierten Resultaten von Dr. H. J. Toxopeus die allgemeine Bedeutung meiner Erfahrungen an *Ceiba* zu bezweifeln. Wenn Fledermausbesuch in Kapokanlagen, wie Toxopeus mitteilt, wirklich ausbleibt, so ist dies wohl damit zu erklären, daß die Tiere in diesen Anlagen nur einige Monate Nahrung finden und daher nicht dauernd in den Anlagen leben können, während die unfruchtbare Umgebung der meisten Anlagen ihnen auch nichts zu bieten hat.

Nach Toxopeus ist die *Ceiba*-Blüte vorzüglich für Selbstbestäubung eingerichtet. Nach dem bisher über die Blüteneinrichtungen Mitgeteilten dürfte es wohl klar sein, daß Selbstbestäubung bloß als Nebenerscheinung

aufzufassen und wahrscheinlich durch Selektion unter abnormalen Verhältnissen verstärkt ist. Sie hat deswegen technische Bedeutung, ist aber keineswegs imstande, die unter natürlichen Umständen (also bei mit anderen Pflanzen zusammenwachsenden Bäumen) entdeckten biologischen Beziehungen zu vernichten. [Auch die Blüten von *Musa paradisiaca* sind ja, obgleich sie gar keiner Befruchtung mehr bedürfen, primär Fledermausblüten.]

In einer mitteljavanischen Kapokplantage, in einer sehr trockenen, unfruchtbaren Gegend (Graswildnis und Djatiwald), fand ich die Blüten ohne Krallenspuren. Auf einer Distanz von 30 km, wo die Vegetation üppiger war und allerlei Bäume die Kampongs umgaben, fand ich aber in einem Dorfgarten alle *Ceiba*-Blüten mit Löchern durchsetzt. Die Eingeborenen sagten hier bestimmt aus, daß Fledermäuse die Blüten wegen des Nektars besuchten.

Durio zibethinus Murr.

Schon vor vielen Jahren untersuchte Beccari [2] zahlreiche *Durio*-Arten in ihrer Heimat Borneo und versuchte ihre Cauliflorie und Biologie zu klären. An einer Stelle äußerte er die bereits in der Einleitung

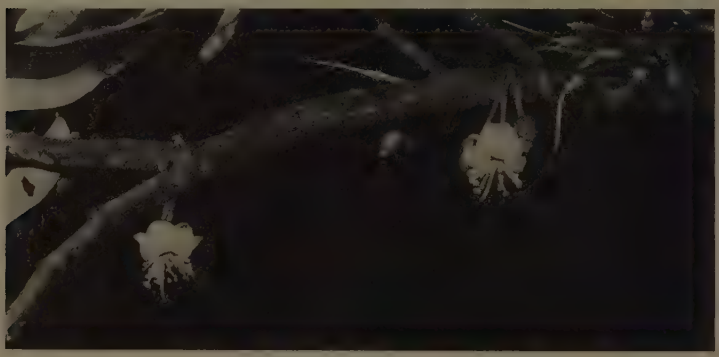


Fig. 10. *Durio zibethinus*. 8 Uhr nachm.

zitierte Vermutung. Merkwürdigerweise nimmt er aber an, die Blüte von *Durio zibethinus* werde von Honigvögeln bestäubt, und zwar auf die Weise, daß sie den Schnabel zwischen Kelch und Krone stecken, was aber niemals zu Befruchtung führen kann, auch darum, weil nachmittags der Pollen noch nicht frei ist.

Hubert Winkler [32] beschrieb später speziell die Blüten des Durianbaumes. Er beobachtete diese in Kamerun und wies darauf hin,

daß Wahrnehmungen in der eigentlichen Heimat der Pflanze gemacht werden müßten. Er sah die Blüten sich zwischen 2 und 4 Uhr nachm. entfalten; um 6 Uhr wurden Antheren und Narbe sichtbar und machte sich ein Geruch von saurer Milch bemerkbar. In der Dämmerung kamen Honigvögel an die Blüten. Obwohl er die Blüte als ornithophil betrachtete, sah Winkler in diesen Vögeln doch nicht echte Bestäuber.

Auch Spennemann [30] konnte Vögel aus den Blüten trinken sehen. Er beobachtete nachmittags um 3 Uhr, lange bevor die Blüten sich noch öffneten, wie *Aethopyga mystacalis* und *Pycnonotus aurigaster* den Schnabel mit Mühe zwischen Kelch und Blumenblatt zwangen und tranken. Von einer Befruchtung konnte auch nach Spennemann keine Rede sein. Er nennt den Geruch süßlich. Später meldete Spennemann, daß auch Krähen die Blumen besuchen, sie aber gänzlich zerstören. Ich selbst wartete zwei ganze Nachmittage, ohne Vögel an den Blüten zu sehen.

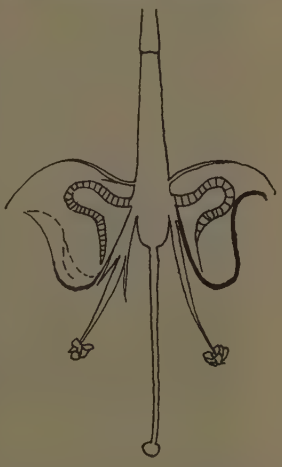


Fig. 11. *Durio zibethinus.* 7 Uhr nachm. Längsschnitt. Der Kelch schraffiert. Die Öffnung der Nektarrinne ist etwas zu weit gezeichnet.

Boedijn und Danser [4] beobachteten Fledermausbesuch an *Durio zibethinus.* In einer kurzen Notiz wird bloß erwähnt, daß bei dem Besuch die Kelche und Antheren herabfielen und die Blüten um Mitternacht bereits abgefallen waren. Es war vorläufig unklar, ob hier Bestäubung oder bloß Zerstörung vorliegt.

Im Oktober und November 1934 konnte ich mehrere blühende Bäume in Bandung beobachten und sah wohl immer regen Besuch, aber keine Zerstörung. Der geringe Fruchtansatz einiger dieser Bäume muß vielleicht einer Selbststerilität oder korrelativen Einflüssen zugeschrieben werden. Auch die Mehrzahl der sich entwickelnden Früchte fällt in sehr jungem Zustande ab.

Wie bereits erwähnt, schoß Dr. M. Bartels einen *Eonycteris* auf *Durio.*

Wenn wir die Blütenmerkmale betrachten, so finden wir die bekannten Tatsachen wieder alle vorhanden. In Bandung sind zwischen 3½ und 4 Uhr nachmittags die Blumenblätter etwas voneinander entfernt, so daß die Narbe gerade sichtbar wird. In diesem Stadium ist der Griffel noch 2½ cm länger als die „Staubgefäße". Zwischen 4 und 4½ Uhr klappen die Kronblätter zurück, so daß die Geschlechtsorgane hervorragen. Die „Filamente" sind jetzt länger geworden und die einzelnen

Antheren auf ihren kurzen Stielen ausgestreckt, so daß der Griffel sie nur noch um ± 7 mm überragt (Fig. 10, 11). Der Pollen kommt erst nach 6 Uhr frei. In der Nacht fallen die Blütenkronen und Staubgefäße als Ganzes ab. An einem abgeschnittenen Zweige waren die Blüten um ½1 Uhr zwar etwas verwelkt, aber nicht abgefallen. Der Durchmesser der Blüte an ihrem Eingang beträgt 2½—3 cm. Dieser Raum wird fast gänzlich vom Griffel und den Filamenten ausgefüllt. Als Ganzes ist die Blüte stark und groß. Der Kelch ist ganz besonders dickwandig (Fig. 11). Der Geruch ist ein typischer „Fledermausgeruch". Er erinnert an Gärungsprozesse, ist aber nicht säuerlich, sondern widerlich süß, etwa wie gärender Zuckersaft und erweckt bei mir stets Brechreiz. Typisch ist ebenfalls die rahmweiße Farbe. Kelch und Außenkelch sind durch Schuppenhaare braungefärbt. Die Nektarmenge stimmt mit jener bei *Ceiba* überein. Der Nektar bleibt aber in der von der Vorwölbung des Kelches gebildeten Rinne liegen. Die lange, biegsame Zunge der *Macroglossinae* findet mühelos den Nektar zwischen den 5 Staubblattbündeln und Kronblättern, für einen Vogelschnabel aber ist es fast unmöglich, die Rinne zu erreichen. Die Blüte liefert wiederum eine beträchtliche Pollenmenge. Die Körner (in Wasser ± 90 μ) sind mit einer klebrigen Masse bedeckt. Diese Substanz sieht ölartig aus, wird von Sudan III rotgefärbt und besitzt große Anziehungskraft für Ameisen, welche die Pollenkörner gern verschleppen.

Nun zur Stellung der Blüten! Sie sind cauliflor, stehen aber nicht bloß am Stamme, sondern auch an den dicken Ästen. Die Figur 10 läßt deutlich ersehen, wie die Blüten frei in der Luft hängen.

Wahrscheinlich haben die meisten *Durio*-Arten im wesentlichen die gleichen Blüten. Nach Beccari [2] sind sie bei den meisten Arten übelriechend, selten (*D. conicus*) ist der Geruch honigsüß. Alle sind sie cauliflor. Daß Beccari die stammbürtigen Blüten aufrecht stehend abbildet, beruht vielleicht auf irrtümlicher Deutung seines Herbarmaterials, ein Fehler, welchen bereits verschiedene Untersucher gemacht haben. Dies ist wahrscheinlich bei *D. testudinarum*, wo die „aufrecht stehenden" stammbürtigen Blüten weiß sind und einen Gärungsgeruch verbreiten. Andererseits aber scheinen z. B. die Blüten von *D. oblongus* Mast. und *D. conicus* mit nicht verwachsenen Kelchblättern, wie Beccari meint, für Vögel sehr geeignet zu sein.

Durio kutejensis Becc. **(Lahia kutejensis** Hassk.)

unterscheidet sich von *D. zibethinus* durch die rosarote Farbe ihrer Kronblätter.

Am 26. Oktober konnte ich die Pflanze blühend in Buitenzorg beobachten. Die kurzstieligen Blüten sitzen in dichten Büscheln an den dicken Ästen, nicht nur hängend, sondern auch horizontal und aufgerichtet. Der Geruch ist wie bei *D. zibethinus* unangenehm, aber mehr säuerlichalkoholisch und erinnert an die Früchte des *Ficus glomerata*. An den nachmittags frisch geöffneten Blüten ist er schon bemerkbar um 5,45; Pollen und Nektar kommen erst nach dieser Zeit frei.

Die Blüten bleiben nur eine Nacht frisch (mit zurückgeschlagenen Kronblättern), fallen aber nicht sofort ab, sondern vermodern fast gänzlich an den Ästen.

Die rote Farbe könnte vielleicht eine Vogelblüte vortäuschen, wenn nicht morgens das welke Äußere der aufs neue zusammengefalteten Kronblätter, der typische Duft und die unzähligen Nagellöcher an den Kronblättern die chiropterophile Blüte verraten hätten. Obschon ich wegen der gewaltigen Regengüsse keine nächtlichen Beobachtungen anstellen konnte, zweifle ich nicht, daß die Blüten von Fledermäusen besucht werden.

Gossampinus (Bombax) Valetonii Bakh.

Diesen Baum erkannte ich im Botanischen Garten von Buitenzorg auf den ersten Blick als chiropterophil. Im Juni trägt er an den kahlen Ästen Blüten, welche im Laufe des Morgens bereits verwelkt abfallen, da der Kelch sich vom Fruchtknoten loslöst. Sie bleiben nur eine Nacht frisch, nachdem sie abends um 8 Uhr plötzlich aufgegangen sind. Mit ihrer Farbe (Kelch und Krone gelbgrün, Staubfäden fahlgelb), dem muffigen Duft und dem Honigreichtum steht die nächtliche Lebensweise in Übereinstimmung. Die Blüten sind ebenfalls stark, groß und vom Bürstentypus (siehe [31]). Der Durchmesser der Antherenfläche beträgt in der Nacht, wenn die Antheren gespreizt stehen, 11 cm.

Fig. 12. *Gossampinus Valetonii* (verwelkt).

Die Blüten (Fig. 12) unterscheiden sich von den Myrtaceen-Bürstenblüten durch ihre besonders großen und pollenreichen Antheren. Auch ist bei ihnen der Zutritt zum Nektar durch 5 sternförmig angeordnete

Spalten zwischen Staubfädenbündeln erleichtert, die um den Griffel herum ringförmig verwachsen sind. Diese Öffnungen messen 7×4 mm und gestatten den Durchgang der Fledermauszunge zum Nektar, der vom Kelche reichlich abgeschieden wird. Der Pollen ist mit kleinen Tröpfchen überdeckt und dadurch stark klebrig. Die schräg aufwärts gerichteten, an den Enden von kurzen Seitenzweigen, inmitten der etagenförmigen Krone gelegenen Blüten sind ebenso leicht zugänglich wie bei *Ceiba*.

Unmittelbar nach der Öffnung klappen die Kronblätter zurück. Später schließen sie sich vielleicht ein wenig. Bei Tage sind die Blumen zusammengefaltet und welk. Sie geben dann einen ganz unrichtigen Eindruck des Äußeren, während der wirklichen Anthese. Leider sind es diese welken Blüten, die in der Monographie Bakhuizens (Bull. Jard. Bot. Buitenzorg, Vol. VII) abgebildet sind. (Demselben Umstand begegnen wir bei fast allen Abbildungen der chiropterophilen Blüten in den systematischen Bearbeitungen.)

Das Schließen fängt wahrscheinlich schon vor dem Ende der Flugzeit der Fledermäuse an, denn nur so sind die regelmäßig vorkommenden Krallenspuren auf den nach unten gerichteten Kronblättern zu erklären. Sie sind deutlich paarig.

Bei einem kurzen Besuch in Buitenzorg konnte ich in der Zeit von 8 bis 9 Uhr kleine Fledermäuse an den Blüten wahrnehmen. Da es mir aber an jenem Abend auch bei *Sonneratia* nicht gelang, vermute ich, daß dieses besonderen Umständen zuzuschreiben ist. Die bei verschiedenen Gelegenheiten gesammelten abgefallenen Blüten trugen aber fast stets Krallenspuren.

Gossampinus heptaphylla Bakh. (**Bombax malabaricum** DC.).

Diese gut bekannte javanische Art trägt bestimmt Vogelblumen. Tagsüber wimmelt es in den Bäumen von Vögeln, wie Spennemann [30] beschreibt. Die Blüten sind feurig rot, stehen aufrecht und scheiden bei Tag viel Nektar ab. Allerdings besteht keine Übereinstimmung bezüglich des Geruchs, da Spennemann einen unangenehmen Geruch feststellte, der an die Blüten von *Oroxylum indicum* erinnert, welche chiropterophil sind (S. 34).

Ich konnte bei abgefallenen Blüten die Anwesenheit eines muffigen Geruchs feststellen, der allerdings schwächer ist als bei *G. Valetonii* und bisweilen auch gänzlich fehlt. Die Anzahl der Antheren und die Pollenmenge ist auch viel geringer als bei dieser Pflanze. Zur gleichen Zeit, da ein *Ceiba*-Baum in Djocjacarta von vielen Fledermäusen besucht wurde, blieb ein benachbarter *Gossampinus heptaphylla* ganz und gar vernachlässigt, obgleich in den Blüten noch Nektar vorhanden war. Es folgt daraus, wie sehr die Fledermausblüten spezifisch sind.

Der Etagenbau ist bei dieser Art mehr oder weniger beibehalten.

Ochroma limonensis Rowlee.

Da diese Art ein bekanntes Nutzholz (Balsaholz) liefert, stehen einige Exemplare davon im Kulturgarten zu Buitenzorg. Sie ist heimisch in Nicaragua. Der Name ist von den Pflanzenetiketten übernommen. Im Botanischen Garten steht anscheinend die gleiche Art unter *O. Lagopus* S w.

An den horizontal ausgebreiteten Ästen der dünnen Krone sind stets einige der großen Blüten (Fig. 13, 14) zu finden. Sie stehen meist an den Enden gedrängt und ragen auf diese Weise offen in die Luft hinein. Sie öffnen sich nachmittags zwischen 5 und 6 Uhr, doch erscheint an der merkwürdigen Staubblättersäule noch kein Pollen. Die miteinander verwachsenen Antheren umgeben zu dieser Zeit die Narbe noch gänzlich. Erst um 6 Uhr spaltet sich die Masse sternförmig (Fig. 13) und kommt der starke Narbenkopf seitlich zum Vorschein[1]). Wieder 1 Stunde später öffnen sich die linienförmigen Staubfächer und wird Honig abgeschieden. Der Duft ist schon um 5½ Uhr bemerkbar, doch wird er erst um 7 Uhr intensiv. Am folgenden Tage fallen die Blüten ab. Duft, Farbe und Nektargewebe sind ebenso wie bei Durio. Der gelbe Pollen ist etwas trockener, doch sind auch kleine Öltröpfchen anwesend, und zwar in jeder Masche der Netzzeichnung eins. Die Menge ist außerordentlich groß. Die in einer Nacht abgeschiedene Honigmenge ist ebenfalls erstaunlich groß. Die fleischigen Kronblätter schließen eng zusammen, und da der Kelch bis oben zu verwachsen ist, entsteht ein Becher mit einem Durchmesser von 6 cm am oberen Rande. Eine vorher mit Gaze umhüllte Blüte fand ich abends um 9.15 Uhr bis zum Rande gefüllt, obgleich es Ende Juli war, also in der Mitte der trockenen Zeit. Diese Flüssigkeitsmenge (in einer Blüte 7½ cc) findet, vielleicht mit Ausnahme von *Dorianthes excelsa*, nicht ihresgleichen in der Pflanzenwelt.

Fig. 13. *Ochroma limonensis*. 6 Uhr nachm. Pollenfächer noch geschlossen. Narbe nach hinten gekehrt. Die Form des Kelches verdeckt von einer dahinter gestellten Knospe. Rechts Fruchtknoten von einer gestrigen Blüte.

1) Man vergleiche die schöne Abbildung des berühmten mexikanischen Macpalxochiquahuit (*Cheirostemon platanoides*) in Flore des Serres, Tome 7, Tab. 649.

Durch ihre Größe, Form und Stellung sind die Blüten ideale Trinkplätze für Fledermäuse, die sich mit den Daumen am Rande festhalten und den Kopf nach unten in die Blüten biegen können. Der Rand der abgefallenen Blüten ist daher stets völlig zerstört und zerfetzt (Fig. 14). Beim Trinken und Pollensammeln kann der Besucher den Kopf am leichtesten gerade neben dem Narbenkopf einführen und so wird dieser zweifellos seitlich berührt. Der Fruchtansatz ist befriedigend.

Fig. 14. *Ochroma limonensis.* Blüte von der vorigen Nacht mit Krallenspuren. Narbenkopf rechts.

Bereits bevor es gänzlich dunkel war (um 7 Uhr), erschienen im März 1935 die Fledermäuse. Die erste, die sich auf eine Blüte setzte, wurde geschossen. Das Tier war eine *Eonycteris spelaea.* Da es noch fast nichts aufgenommen hatte, enthielt der Magen des Tieres keinen Pollen und nur wenig Nektar. Zu meiner Überraschung waren in diesem Nektar Falterschuppen anwesend.

Ohne Zweifel schließen sich viele amerikanische und altweltliche *Bombacaceae* den bis nun besprochenen Arten an.

e) Sterculiaceae.

Dombeya Wallichii Benth. et Hook.

Bei einem kurzen Besuch in Buitenzorg fielen mir an dieser aus Madagaskar eingeführten Pflanze sofort die an langen Stielen pendelnden Blütenstände auf (Fig. 15). Diese Stellung der doldenförmigen Blütenstände, durch welche die Blüten nach unten gerichtet sind, ist äußerst typisch. Um 4.45 Uhr nachmittags fand ich die Blüten bereits geöffnet und auch den typischen Fledermausgeruch schon deutlich bemerkbar, der sehr an *Durio* erinnerte. Der sehr klebrige, gestachelte Pollen hatte die Antherenfläche

Fig. 15. *Dombeya Wallichii.* 5½ Uhr nachm.

schon verlassen. Außer der frühen Erschließung unterscheiden sich die Blüten vom gewöhnlichen Typus durch die hellrosa Färbung der Kronblätter. Daß letztere sehr zart und papierartig sind, bedeutet in diesem Zusammenhang keine Abweichung, da die die Dolde umgebenden grünen Brakteen genügende Landungsmöglichkeit bieten. Die einzelnen Blüten sind ziemlich klein, doch bilden sie viel Pollen und Nektar. Letzterer erschien bereits um 4.45 Uhr in der Form kleiner Tröpfchen unten an der Trennungslinie der Kronblätter, später nahm die Menge noch beträchtlich zu.

Daß ich keinen Fledermausbesuch wahrnahm, hat vielleicht denselben Grund wie bei *Gossampinus Valetonii* (S. 22) angeführt wurde.

Ich wage es nicht, *Dombeya* als fledermausblütige Pflanze anzuerkennen oder auszuschließen. Der negative Ausfall meiner nur kurze Zeit dauernden Beobachtungen ist nicht entscheidend, auch weil die Pflanze sehr isoliert dastand. Ein sehr belangreicher Punkt, nämlich ob auf Madagaskar überhaupt *Macroglossinae* vorkommen, mußte mangels zoologischer Literatur unentschieden bleiben.

Fig. 16. *Sonneratia acida.* 7 Uhr nachm.

f) Sonneratiaceae.

Sonneratia acida L.

Im botanischen Garten sind einige fortwährend blühende Bäume anwesend. Die Knospen öffnen sich erst nach Sonnenuntergang. Die in ihrem Oberteil weißen Staubfäden fallen im Mondlichte besonders auf (Fig. 16). Die purpurroten schmalen Kronblätter sind wenig auffallend. Der hohle Blütenboden ist mit Nektar gefüllt und die Antheren sind groß und pollenreich (im Vergleich mit denen der ornithophilen Bürstenblüten!). Der Pollen ist wohl klebrig, aber feinkörnig (± 30 μ). Der charakteristische Duft ist anwesend, widerlich süß wie bei *Durio*. Auch die Stellung an den langen herabhängenden Zweigen ist sehr charakteristisch (Fig. 16). Bei den Blüten ist sie auf den ersten Blick nicht so typisch, weil an der Spitze der Zweige noch einige Blätter vorkommen; bei den Früchten aber fällt sie unmittelbar auf, weil dort diese Blätter abgefallen sind.

Es ist höchst interessant, den Baum zu sehen, wenn eine Anzahl Fledermäuse sich an den Blüten laben. Die dünnen Zweige biegen sich dann hintereinander durch und pendeln hin und her.

g) Lecythidaceae.

Barringtonia.

Die Blüten dieser Gattung, die ich auf Anlaß der Porschschen Vermutungen untersuchte, hängen meist in langen Trauben in die Luft. Die Farbe der Filamente ist vornehmlich rosa oder rosa mit weiß. Die Menge des Nektars und des Pollens ist nicht besonders groß und der Duft nicht unangenehm. Die Lage des Nektars, in einer aus mehreren verwachsenen Staminodien gebildeten Röhre, scheint mir sogar bei der großblütigen Art *B. asiatica* Kurz. (Antherenfläche 20 cm Durchmesser) für Fledermäuse zu verborgen zu sein.

Obwohl einige *Barringtonia*-Bäume neben Sonneratia standen, konnte ich auf ersteren keinen Fledermausbesuch beobachten. Immerhin besteht die Möglichkeit, daß ich die richtige Zeit versäumt habe, denn kürzlich fand ich um 7.15 Uhr nachmittags bei *B. asiatica* in den geöffneten Blüten die Antheren noch geschlossen.

B. Sumatrana Miq. überwachte ich bis spät in die Nacht, ohne Besucher zu sehen.

Die Gattung *Chydenanthus* hat wahrscheinlich wesensgleiche Blüten.

Couroupita guianensis Aubl. zieht durch die großen stammbürtigen Blüten die Aufmerksamkeit auf sich. Diese sind aber nur bei Tag geöffnet, duften aromatisch und sind schön gefärbt. Pollen und Honig sind bloß wenig vorhanden. Niemals sah ich Fledermausbesuch. Die Abbildung in Knuth-Loew (nach Engler-Prantl) gibt nicht, wie dort erwähnt, die natürliche Lage wieder, sondern muß um 90° nach rechts gedreht werden.

h) Myrtaceae.

Eugenia.

Auf dem Bauch und im Magen eines auf *Ceiba* gefangenen *Macroglossus* war Pollen zu finden, der wahrscheinlich von einer *Eugenia*-Art herstammte. (In unmittelbarer Nähe stand ein *E. javanica* Lam.)

Es stellte sich heraus, daß viele *Eugenia*-Arten in der Nacht blühen. Bei *E. javanica* und vielen anderen war es mir schon früher aufgefallen, daß am Morgen so wenig Pollen vorhanden war und die Blüten so rasch auseinanderfielen. Nachmittags um 4.15 Uhr fangen die noch einwärts gekrümmten Staubfäden an sich zu strecken. Um 5 Uhr sind sie alle gestreckt, doch erst um 6 Uhr sind sie flach ausgebreitet, wie meistens bei Pinselblumen. Nektar ist zu dieser Zeit schon vorhanden. Erst nach Sonnenuntergang öffnen sich die Antheren.

Daß die Blüten an den großen Ästen sitzen und weiß sind, stimmt mit dem Fledermaustypus überein, nicht aber, daß sie wohlriechend sind und nur wenig Pollen führen. Außerdem liegt der Nektar für Fledermäuse zu verborgen. Ich konnte auch niemals Fledermausbesuch konstatieren. Honigvögel sind früh morgens auf den Blüten oft beobachtet. Auch pollensammelnde Bienen besuchen die Blüten.

E. malaccensis L. hat Vogelblüten, während andere kleinblütige Arten wohl entomophil sind.

i) Sapotaceae.

Madhuca macrophylla H. J. L. (**Payena macrophylla** Burck.).

Eines Abends im Juli 1935 in Buitenzorg, mit dem Überwachen eines *Dombeya*-Bäumchens beschäftigt, hörte ich in der Nähe das Kreischen und Flattern einer großen Menge Fledermäuse um den Gipfel eines hohen Baumes herum, während ein Geräusch wie das eines Regens auf dem Boden wahrnehmbar war. Es ergab sich, daß einige große Kalongs (*Pteropus*) und eine Menge kleinerer Fledermäuse die Blumenkronen einer *Madhuca* fraßen und sie an Ort und Stelle auskauten. Nach dem Lärm zu urteilen, wird diese Speise sehr hoch geschätzt. Da die fruchtfressenden Fledermäuse, wie bekannt, ihre Nahrung sehr oft fallen lassen, war der Boden nicht nur mit ausgekauten Resten, sondern auch mit unversehrten Blütenkronen bedeckt. Die ganze Gegend roch säuerlich muffig durch die sehr intensiv nach Mäuseurin stinkenden Blüten.

Was die Stellung der Blüten betrifft, so ist zu erwähnen, daß sie an den kahlen Zweigen in den Achseln der bereits gefallenen Blätter sitzen und dichte Blütenstände bilden. Sie stehen also frei von den Blättern, welche nur am Ende der Zweige angehäuft sind. Die Fledermäuse können sich also, wie ich auch beobachten konnte, ruhig an den dicken Zweigen anhängen, während sie sich an den Blüten gütlich tun.

Die abgefallene Blütenkrone, an der auch die Antheren befestigt sind, bildet einen radförmigen Körper mit 17 mm Durchmesser. Sie ist grün und sehr saftig.

Daß diese von den *Pteropinae* gefressenen Blumen denselben Geruch haben wie die gewöhnlichen chiropterophilen Blumen, deutet daraufhin, daß dieser Geruch sowohl auf fruchtfressende als auf honigleckende Fledermäuse anziehend wirkt, und dieses stimmt wiederum überein mit der bereits publizierten, im 5. Abschnitt nochmals zu nennenden Auffassung, daß Fledermausfrüchte und Fledermausblumen zum Teil dieselben Merkmale haben. Sehr auffallend ist auch die Übereinstimmung zwischen dem Geruch der *Madhuca*-Blüten und dem der *Psidium*-Früchte, die in Bandung die beliebteste Speise der *Cynopterus*-Arten bilden.

Ich fand an den abgefallenen Blütenkronen nie sonstige Blütenteile, so daß der Fruchtknoten, was ich an heruntergeholtem Material bestätigen konnte, unbeschädigt hinterbleibt. Beim Pflücken der Kronen werden sehr leicht die an der Schnauze haftenden Pollenkörner auf die Narbe gelangen. Ich fand fast alle Fruchtknoten befruchtet.

Es war mir nicht möglich, die Besucher zu schießen.

Palaquium gutta Baill. und **P. quercifolium** Burck.

Beide sind, wie *Madhuca*, im malayischen Gebiet heimisch. Erstere Art wird in großen Mengen als Stammpflanze der Guttapercha auf der Plantage Tjipetir angebaut.

Auch hier sind die Blüten grünlich und riechen äußerst übel. Die Ähnlichkeit mit dem Geruch vieler Fledermäuse selbst ist hier besonders auffallend. Die Stellung der Blüten ist ungefähr so wie bei *Madhuca macrophylla*. Da sie ziemlich klein sind und an den ± 1 cm dicken Zweigen dichtgedrängt stehen, entsteht auf den ersten Blick der Eindruck, daß Cauliflorie vorliegt. Der Bau der Blüten ist insofern abweichend, daß die Krone nicht dickfleischig, sondern ziemlich dünn ist. Unter den Bäumen in Buitenzorg fand ich morgens viele abgefallene Blütenkronen, aber keine ausgekauten Reste.

Wegen der an der Stelle der *Sapotaceae* gegebenen Gefahren war mir ein weiterer Aufenthalt bei Nacht im Garten, zum Abschließen meiner Beobachtungen, nicht möglich, so daß ich nicht weiß, ob die Blüten den Fledermäusen etwas zu bieten haben und ob sie von den Fledermäusen besucht werden. Herr Meray von Tjipetir, dem ich meine Vermutungen mitteilte, berichtete mir aber, daß in der Blütezeit der Bäume jeden Abend Kalongs in großen Scharen von weither nach der Plantage ziehen und daß die Blüten abends Honig enthalten.

Daß die Blüten einen großen Reiz auf Fledermäuse ausüben, folgt aus einigen Beobachtungen an nach Bandung gebrachten Zweigen mit Blüten. Ich näherte mich im zoologischen Garten dem Käfig der *Pteropus*, und sofort wurden die beiden dort gepflegten Tiere unruhig, ließen ihr Futter im Stich und schnüffelten heftigst. Obgleich die Tiere seit ihrer frühesten Jugend im Garten gelebt hatten, reagierten sie instinktiv auf den Geruch. Nachdem die Zweige im Käfig aufgehängt waren, näherten sie sich diesen sofort und fingen an, die Blüten und auch die Blätter zu belecken, wobei die beiden Tiere sich sehr eifersüchtig benahmen. Nach einer ½ Stunde waren sie immer noch mit dem Lecken beschäftigt.

Da hier ungeübte Fledermäuse und ausgeblühte Blumen vorlagen, können diese Beobachtungen uns nichts lehren über die Beziehungen in der Natur, es folgt aber daraus, daß die *Palaquium*-Blüte etwas sehr Anziehendes hat, daß der charakteristische Geruch auch auf *Pteropinae* wirkt und weiter wahrnehmbar ist und vielleicht, daß bei den chiropterophilen Blüten nicht nur Befriedigung des Nahrungsbedarfs, sondern auch Befriedigung anderer (narkotischer oder feinschmeckerischer) Bedürfnisse im Spiel ist.

Bassia latifolia Roxb. **(Madhuca longifolia** H. J. L.).

Da Molisch in seinem Buche „Als Naturforscher in Indien" von den Blütenkronen dieser Pflanze sagt, daß sie dickfleischig sind, sofort nach Sonnenaufgang abfallen und unangenehm nach Mäuseurin riechen, vermute ich, daß auch diese Blüten von Fledermäusen bestäubt werden. Da die Blüten zu klein sind, ist Besuch von *Macroglossus* in der üblichen Weise unwahrscheinlich, und da Porsch [29] (S. 662) bereits erwähnt, daß Fledermäuse die Blüten fressen, war es deutlich, daß hier der gleiche Fall wie bei der sehr nahe verwandten *Madhuca macrophylla* vorlag.

Herr Ch. McCann in Bombay teilte mir auf meine Bitte mit, daß die Blüten dort stark von *Cynopterus sphinx* besucht werden, und versprach mir, der Sache weiter nachgehen zu wollen[1]).

Bei vielen anderen *Sapotaceae* ist Chiropterophilie zu erwarten. In den systematischen Monographien werden leider fast keine biologische Angaben vermeldet, doch ist aus den Abbildungen (die stets kronenlose Blüten wiedergeben) abzuleiten, daß die Blüten morgens abfallen. Bei *Mimusops* und einigen *Payena*-Arten sind die Blüten wohlriechend und stehen merkwürdigerweise zwischen den Blättern verteilt. Bei *Madhuca sericea* H. J. L. und *Ganua pallida* H. J. L. fand ich die Angabe „flowers fragant".

j) Convolvulaceae.

Erycibe ramiflora Hall. f.

Dr. C. G. J. van Steenis in Buitenzorg machte mich auf diese cauliflore *Convolvulacea* aufmerksam. Da diese sumatranische Art die einzige cauliflore in der ganzen Familie ist, war sie zur Prüfung meiner Auffassung [23] über den Zusammenhang zwischen Cauliflorie und Fledermausbeziehungen der Pflanzen sehr geeignet (siehe S. 36).

Aus Halliers Originalbeschreibung [12] ergibt sich folgendes: Während die verwandten Arten angenehm duften, besitzt *E. ramiflora* übelriechende Blüten (odore gravichlorico). Sie öffnen sich in der Nacht und haben dickfleischige, bleichgelbe, stellenweise mit einem trübroten Hauche übergossene Kronblätter. Alles stimmt mit dem Fledermaustypus überein. Der Durchmesser der Krone ist nicht so beträchtlich, bloß 15—17 mm, aber nur die direkte Anschauung kann uns belehren, ob die Blüte für Fledermausbesuch geeignet ist, was aber sehr wahrscheinlich ist. Hallier sah viele Fliegen auf der Blüte und meint, sie sei an Dipterenbesuch angepaßt.

1) Kurz vor dem Empfang der Revision erhielt ich Separata von Porsch (Biol. Gen. 1935, S. 220f. und S. 171f.), aus denen sich ergibt, daß er zum gleichen Urteil über *Adansonia* und *Bassia* gekommen ist.

k) Bignoniaceae.

Crescentia Cujete Linn.

Die Biologie der Blüten des bekannten Kalebassenbaumes wurde von Porsch [27] bereits ausführlich beschrieben, und zwar nach einem Exemplar an dem natürlichen Standort in Costa Rica. Ich will jetzt bloß auf einige abweichende Befunde bei den in Java eingeführten Pflanzen aufmerksam machen und verweise auf Porschs schöne Abbildungen. Was Porsch als Abnormität erwähnt, daß nämlich die Blüten am nächsten Tage geöffnet bleiben, ist auf Java die Regel. Die Blüten bleiben also zwei Nächte geöffnet und welken im Laufe der zweiten Nacht (siehe Fig. 17). In dieser Nacht sind die alten Blüten an den schwarzen, fast pollenlosen Antheren zu erkennen, während diese sonst weiß sind. Sie duften noch ein wenig, scheiden aber keinen Nektar ab.

Fig. 17. *Crescentia Cujete*. 4½ Uhr nachm. Eine Blüte der vorigen Nacht, zwei entfaltungsbereite Knospen.

Die Knospen öffnen sich bei Sonnenuntergang und verbreiten dann einen deutlich wahrnehmbaren Geruch, während sich in der Rinne der Blütenkrone (vgl. Porsch [27]) viel Nektar ansammelt. Die Pollenmenge ist beträchtlich.

Die Stammbürtigkeit der Blüten wird von Porsch nicht besonders erwähnt, und doch ist dies eine äußerst typische Anpassung, die das Anfliegen der Fledermäuse möglich macht. Nur an den ältesten Stämmen entstehen Blüten und nur völlig freiliegende Blüten werden besucht. Wenn ein Ast oder irgendetwas anderes die Blüten auch nur einigermaßen bedeckte, fand ich niemals Krallenspuren. Dagegen wurden freistehende Blüten auch dann besucht, wenn sie nur 25 cm vom Boden entfernt waren. In diesem Zusammenhang möchte ich erwähnen, daß *Macroglossus* ohne Schwierigkeiten vom Boden auffliegen kann.

Ebenso wie Porsch fand ich nur an der dorsalen Außenseite Verletzungen. Wegen bestimmter lokaler Schwierigkeiten konnte ich die Besucher nicht erbeuten.

In einer kurzen populären Abhandlung [21] habe ich die Vermutung ausgesprochen, die reizbaren Narben der *Mimulus*-Arten seien Kennzeichen, mittels welcher die Kolibris diejenigen Blumen erkennen, die noch nicht bestäubt sind. Diese Auffassung stimmt zu dem Betragen

der Vögel, die aus der Menge bestimmte Blüten aussuchen, und scheint mir für die vielen Vogelblüten unter den *Bignoniaceae* vielleicht zutreffend; auf die ebenso reizbaren Narben der *Crescentia*-Blüten läßt sie sich aber nicht anwenden.

Parmentiera cerifera.

Die Blüten dieses kleinen Baumes im botanischen Garten sind ebenso stammbürtig und sehen genau so aus wie diejenigen der *Crescentia*. Die Farbe ist etwa heller, weißgrün, der Geruch etwas stärker unangenehm. Sie öffnen sich erst nach 8 Uhr abends und sind um 8 Uhr morgens bereits abgefallen und von vielen Löchern durchbohrt. Die Rinne in der Unterlippe ist weniger stark ausgeprägt als bei *Crescentia* und die Blütenkrone, obwohl sehr turgeszent, doch viel zarter gebaut. Wenn nicht die Nagelspuren (immer dorsal an der Außenseite) auf regen Besuch hingewiesen hätten, so würde ich nie angenommen haben, daß die Krone eine Fledermaus tragen könnte. Vielleicht werden wir später bei Fledermausblüten noch spezielle Befestigungseinrichtungen im Gewebe finden.

Es war in dem dunklen Gestrüpp, in welchem diese Pflanze wächst, nicht leicht, eventuelle Besucher zu überwachen. Eines Abends aber fand ich die kurz zuvor noch unversehrten Blüten verletzt. Als ich nach einiger Zeit wieder Licht machte, sah ich gerade eine Fledermaus vor der Blüte von der Größe eines *Macroglossus*.

Kigelia aethiopica Decne.

Der bekannte Leberwurstbaum aus den Savannen Afrikas ist das klassische Beispiel einer chiropterophilen Pflanze. Winkler [33] sprach bereits die Vermutung aus, Heide [14] beobachtete den Besuch, ich selbst [20] und McCann [6] konnten dies bestätigen. Daß die Blüten nur eine Nacht leben, einen säuerlichen Duft verbreiten, viel Nektar enthalten, an langen Stielen frei in der Luft hängen, daß sie morgens durchlocht sind, eine dunkle Farbe haben, dies alles ist schon lange bekannt. Durch ihre fleischige Beschaffenheit ist die Krone sehr stark. Der Saum, dessen Unterteil als Anflugplatz gebraucht wird, ist weniger fleischig, aber doch noch genügend stark. Durch seine runzelige Beschaffenheit wird das Anklammern sehr erleichtert. Die Farbenverteilung hat Ähnlichkeit mit der bei *Musa*. Vom braunroten Hintergrund hebt sich der helle Nektar enthaltende Teil deutlich ab. (Eine Abbildung der Blütenstände in [20].)

Nach Heide ist bei abgefallenen Blüten die dorsale Seite von außen her mit Löchern durchbohrt. In Bandung ist dies eine Ausnahme (vgl.

S. 4). Ich sah dort die Besucher deutlich in die Krone hineinkriechen. In dieser Weise, nämlich mit den Daumenkrallen in die Unterlippe geschlagen, bildete auch McCann eine besuchende Fledermaus ab.

Heide nennt sie *Eonycteris*, ich aber sah in Bandung stets bloß *Macroglossus*. Daß McCann *Cynoglossus sphinx* als Besucher angibt, erscheint mir merkwürdig. Da McCann die Fledermäuse nicht erlegte, müssen seine Angaben als vorläufig aufgefaßt werden.

Bei der langen Zunge der *Macroglossinae* erscheint mir der Kippmechanismus, durch welchen McCann den Nektar nach vorne fließen lassen will, überflüssig. Ich schoß einen *Macroglossus minimus* und fand in seinem Magen neben Nektar und einem Pollenkuchen eine aus Zellentafeln bestehende Masse. Diese stammt von den Drüsenhaaren her, welche die basalen Enden der Filamente und den Fruchtknoten bedecken. Beim Nektarlecken reiben die Fledermäuse offenbar diese Zellen ab. Daraus folgt, daß ihre Zunge wirklich bis zum Blütenboden hindurch dringt. Bei einem lebenden Tiere nahm ich dies übrigens deutlich wahr.

Der von mir erlegte *Macroglossus* hatte nur an der Oberseite des Kopfes zwischen den Ohren viel Pollen. Daraus läßt sich ableiten, daß der Körper wirklich in die Blüten eindringt, und so ist es sehr wohl möglich, daß die Antheren dabei direkt berührt werden. Daß der Pollen ziemlich trocken ist und durch bloßes Schütteln der Blüte aus den Antheren auf den Besucher fallen kann, gebe ich McCann zu. Die Tiefe der Krone beträgt 7, die Breite des Saumes 12 cm, so daß sehr große Besucher ohne weiteres in sie hineinkriechen können. Die Abbildung, aus welcher Werth [31] auf Ornithophilie schließt, stimmt mit meiner javanischen Erfahrung an *K. aethiopica* nicht überein.

Nachmittags um 5 Uhr fand ich bei den in Öffnung begriffenen Blüten die Antheren bereits erschlossen und den Pollen scheinbar an den Narben klebend. Dies kann jedoch keine Selbstbestäubung verursachen, da die eigentlichen Narbenflächen (die Innenseiten der zwei Narbenschenkel) durch das Zusammenhaften der beiden Schenkel noch nicht bestäubungsfähig sind. Bei Selbstbestäubung würde übrigens der Fruchtansatz nicht so spärlich sein. Meine frühere Behauptung [20], *Kigelia* sei selbstfertil, möchte ich hier zurückziehen, da es sich herausstellte, daß in der Nähe des zuerst beschriebenen Exemplars noch zwei weitere Bäume anwesend waren.

Wie sehr der Fledermausbesuch zur Befruchtung nötig ist, ersieht man aus folgendem: In Honolulu fand ich ein reichlich fruchtendes Exemplar, obwohl es dort praktisch keine Fledermäuse gibt. Ich publi-

zierten diesen mit meinen Auffassungen nicht übereinstimmenden Befund [31] und erhielt darauf von Prof. H. St. John von der Universität Hawai die Nachricht, er habe bereits früher mitgeteilt [26], daß dieser Baum nicht selbständig Frucht ansetzte, sondern nur durch künstliche Kreuzbestäubung.

Markhamia stipulata Seem.

Von Heide wurde für Buitenzorg bereits Besuch von *Eonycteris* beschrieben. Die Charaktere der Blüten sind damit in völligem Einklang. Der Bau entspricht fast völlig dem von *Kigelia*, die Farbe der Innenseite ist etwas heller und fahler und der Saum am Rande an seiner Innenseite von einer schmalen gelbgefärbten Zone umgeben. Das Herz der Blüten ist wiederum hellgelb. Auch Geruch, Nektar und Pollen stimmen überein. Das Öffnen findet etwas später statt, nämlich zwischen 7 und 7½ Uhr. Die Stellung ist gänzlich abweichend, aber ebenso typisch, nämlich an terminalen, aus der Krone hervorragenden Stielen (siehe Fig. 18).

Fig. 18. *Markhamia stipulata.* 8 Uhr nachm. Blüten von der dorsalen Seite gesehen, mit Drüsen.

Auf den ersten Blick scheinen bereits ungeöffnete Knospen Verletzungen zu tragen. Diese befinden sich genau an der üblichen Stelle, dorsal und symmetrisch orientiert. Es sind dies aber keine Verletzungen, sondern Organe der Pflanze, die eine Flüssigkeit ausscheiden. Für Lamarckistische Theorien ist dieses Beispiel vielleicht wichtig. Blütenbiologisch sind die Organe aber schwer zu deuten.

Die abgefallenen Blüten zeigten in Buitenzorg am 15. April 1935 ausnahmslos äußere, dorsale Verletzungen.

Viele andere Arten der Gattung *Markhamia*, die als *Bignonia-*, *Spathodea-* oder *Dolichandrone*-Arten beschrieben sind, müssen als chiropterophil bezeichnet werden. Sprague (Kew Bulletin 1919) hat alle Arten mit wohlriechenden weißen Nachtfalterblumen zur Gattung *Dolichandrone* und jene mit schmutziggelber oder purpurgefleckter Krone zu

Markhamia gestellt. Die meisten dieser *Markhamia*-Arten sind nicht wie unsere Art in Asien, sondern in Tropisch-Afrika zu Hause. Ich nenne *M. puberula* K. Schum., *M. acuminata* K. Schum., *M. zanzibarica*, *M. stenocarpa* u. v. a., die auch meistens als übelriechend erwähnt werden. Die großen Blüten von *M. caudafelina* Craib [*Dolichandrone caudafelina* (Hance) B. et H.] sind ebenfalls purpurn und riechen unangenehm („raw shrimps"). Die Pflanze stammt aus Hainan. Ich fand eine große Zahl dieser Bäume fruchttragend auf dem Campus der Ling-Nan-University in Kanton angepflanzt. Wie die Blüten hier bestäubt werden, ist mir nicht bekannt.

Dr. C. G. J. van Steenis machte mich noch auf *Pajanelia longiflora* (Willd.) K. Schum. (*Bignonia multijuga* Wall.) aufmerksam, welche eine große, grün und fahlrote Krone hat und unangenehm nach Seife riecht. Auch hier stehen die Blüten terminal.

Oroxylum indicum (L.) Vent.

Bereits vor einigen Jahren wurde *Oroxylum* (Fig. 19—21) als Fledermauspflanze signalisiert [20]. Auch wurde a. a. O. auf einige mit *Kigelia* übereinstimmende Merkmale hingewiesen. Die Mitteilung über den Aasduft (von Porsch [27] übernommen) muß ich hier zurücknehmen. Der Geruch ist muffig und auf andere Weise unangenehm als bei *Kigelia*. Die Blütenöffnung ist etwas geringer und beträgt etwa 4 cm. Die Farbenverteilung ist gerade umgekehrt: außen schmutzig purpurn, innen gelbgrün (Fig. 20). Sehr typisch ist die Beschaffenheit der Krone. Diese ist so dickfleischig, daß sie in abgefallenem Zustande 12 g wiegt. Die Krallenspuren reichen tief in die fleischige Masse hinein und sind äußerst auffallend. In Buitenzorg (Fig. 21) fand ich sie nur dorsal an der Außenseite als lange Risse. In Bandung waren sie meist rund und lagen sowohl außen wie innen auf den ventralen Zipfeln des Saumes. Dieser Unterschied hängt wohl, wie bei

Fig. 19. *Oroxylum indicum*. Der untere Teil des Baumes nicht sichtbar. An den Stielen Knospen.

Kigelia, mit der Verschiedenheit der Bestäuber zusammen. Die Blüten erschließen sich erst spät abends, zwischen 7½ und 8 Uhr (Oktober 1934). Bald nach der Öffnung erscheinen zahlreiche Besucher. Leider konnte ich keinen davon erbeuten.

Zwischen 4 und 6 Uhr morgens fallen die Blüten wieder ab. Die Pflanze verbraucht dadurch bei der Anthese eine große Menge

Fig. 20. *Oroxylum indicum.* 9 Uhr vorm. Die abgefallenen Blütenkronen sind wieder eingesteckt.

Fig. 21. *Oroxylum indicum.* Abgefallene Blütenkrone mit Krallenspuren.

Material, das ich für einen älteren Baum auf 600 g pro Tag schätze. Ich schlug bereits vor, dieses Material als Nahrung zu verwenden, so wie dies bei *Bassia latifolia* geschieht.

Daß die Blüten eine Menge Nektar ausscheiden, darf einen nicht wundern. Der Nektar schmeckt sehr schwach süß, trocknet selbst nach 7 Stunden nicht ein, sondern wird zähe und schleimig. Ameisen, die den Nektar vorgesetzt bekamen, leckten ihn nicht auf. Die Stellung der Blüten ist, wie die Figuren 19 und 20 ersehen lassen, sehr typisch. Sie ragen auf 1—1½ m langen, kräftigen Stielen oben aus der Krone.

Der bevorzugte Standort von *Oroxylum* ist nicht der dichte Urwald, sondern der lichte sekundäre Wald oder die savannenartigen Wildnisse in den trockneren Gebieten.

IV. Übersicht der Resultate.

Nachdem jetzt 20 Gattungen mit positivem Resultat untersucht sind, kann die chiropterophile Blumenklasse genauer definiert werden, so daß ihr Bestehen als unumstößliche Tatsache anerkannt werden muß. Die Untersuchungen über Vogelbestäubung haben die Äußerungen der tropischen Flora bereits viel verständlicher gemacht, und jetzt wird ihr Wesen noch deutlicher durch den Zusammenhang mit einem anderen Teil der tropischen Fauna.

Einige der bekannten Merkmale der Fledermausblütigkeit (vgl. S. 1) haben sich als zu eng gefaßt ergeben und neue müssen hinzugefügt werden.

Daß die Blüten im allgemeinen nur bei Nacht geöffnet sind, weist auf das sehr positive Element in den Anpassungen der Blüten. Es ist darum nicht möglich anzunehmen, daß die Fledermäuse nur irgendwelche Blumen, die ihnen zufälligerweise etwas zu bieten haben, besuchen.

Die Merkmale über die Größe der Blüte (3 und 4) sind schwierig in eine bestimmte Form zusammenzufassen, weil bisweilen Blütenstände als Ganzes besucht werden.

Der Geruch ist ebenfalls schwer zu definieren, er erinnert meistens an Gärungsprozesse (vgl. S. 4). Der Unterschied gegenüber anderen duftenden Nachtblumen, den Nachtfalterblumen, ist aber stets deutlich. Der typische, unangenehme Geruch ist das auffallendste und konstanteste Merkmal der Fledermausblumen.

Für die Bedeutung des Geruches ist kennzeichnend, daß *Calliandra* in vieler Hinsicht für Fledermäuse anziehend sein muß und dennoch nicht besucht wird, was wohl in erster Linie durch das Fehlen des richtigen Geruches verursacht wird.

Bei *Palaquium* wurde bewiesen, daß alle Megachiropteren (Fruchtfresser und Honiglecker) instinktiv auf den Geruch reagieren, und hier wurde auch die Fernwirkung des Geruches demonstriert. Vielleicht steht der Geruch auch mit sexuellen oder sozialen Instinkten der Fledermäuse im Zusammenhang. (Die meisten Fledermäuse sondern stinkende Drüsensekrete ab, durch die sie einander finden, wenn sie sich zu Gruppen sammeln.) Bei den *Sapotaceae*-Blüten, wo die Bestäuber Fruchtfresser sind, ist die Ableitung des Geruches von vorhergehenden gärenden Flüssigkeiten, wie auf S. 4 geschah, nicht gut möglich.

Merkmal 5 ist mehr Kennzeichen als Merkmal und sollte besser fortgelassen werden.

Was die Farbe anbetrifft, so ist dieses Merkmal auch mehr negativ als positiv insofern, als eine eventuelle Farbe einflußlos ist und nur mit

dem Ökonomieprinzip in der Natur im Widerspruch wäre. Eine Untersuchung der optischen Empfindlichkeit der *Macroglossinae* soll entscheiden, ob die bei *Dombeya*, *Eperua* und *Durio kutejensis* aufgefundene rosa Farbe der Blüte positive Bedeutung hat, was im vorhergehenden für helle Farben bereits vorausgesetzt wurde.

Zusammenfassend möchte ich als Merkmale der chiropterophilen Blumen nennen:

1. Nächtliche Blütezeit oder Pollen- und Honigabsonderung.
2. Unangenehmer, säuerlicher oder muffiger Geruch.
3. Blüten oder Blütenstände stark genug, eine Fledermaus zu tragen.
4. Honig für eine Fledermauszunge zugänglich.
5. Farbe hell oder trübe oder beides kombiniert.
6. Viel schleimhaltiger Honig.
7. Viel Pollen.
8. Exponierte Stellung (außerhalb der Krone, an offene Räume grenzend oder cauliflor).

Diese Merkmale gelten für amerikanische (*Agave*, *Ceiba?*, *Ochroma*, *Aperua*, *Crescentia*, *Parmentiera*), afrikanische (*Adansonia*, *Kigelia*, *Markhamia*) und asiatische Blumen (*Durio*, *Gossampinus*, *Sonneratia*, *Parkia*, *Oroxylum* c. s.). Unterschiede nach dem Ursprungslande, wie sie bei Vogelblumen konstatiert worden sind, konnte ich nicht entdecken.

Bei einigen Gattungen sind anscheinend Übergänge zu anderen Blumenklassen vorhanden. Ich meine *Calliandra* und vielleicht einige *Lecythidaceae*, welche meist Bürstenblüten haben. Dieser Typus ist vielleicht nicht immer scharf differenziert. Ob hier aber Übergangstypen oder Doppelanpassungen oder Anpassungen an unbekannte Bestäuber vorliegen, kann ich nicht entscheiden. Andererseits ist es merkwürdig, daß bisweilen plötzlich in den verschiedensten Familien ohne Übergänge Fledermausblüten auftreten. *Erycibe ramiflora* und *Agave* stehen isoliert da. Die Entstehung dieser Anpassung bleibt völlig rätselhaft und spottet jeder Erklärung durch ungerichtete Abänderungen und langsame Anpassung. In den Familien der *Bombacaceae* und *Bignoniaceae* dagegen scheint die Chiropterophilie weitverbreitet zu sein.

Die Chiropterophilen wachsen unter allen Arten von Vegetationsbedingungen. Die meisten leben in offenen Gebieten, wie Steppen und Savannen (*Agave*, *Adansonia*, *Ceiba*, *Kigelia*, *Oroxylum*), andere in lichtem Wald (*Musa*, *Oroxylum*, *Gossampinus*), aber auch im Urwalde sind sie zu finden (*Durio*, *Parkia*).

Wird es einmal gelungen sein, die Areale der chiropterophilen Pflanzen zusammenzustellen, so wäre es sehr interessant, sie mit denen der blumenbesuchenden Fledermäuse zu vergleichen.

Einige chiropterophile *Sapotaceae* bilden eine Nebenklasse, die eine Parallele bildet zu *Freycinetia* und anderen Pflanzen unter den Ornithophilen, welche Beköstigungskörper oder Kronblätter als Nahrung anbieten. Nur sind bei diesen *Sapotaceae* auch die Bestäuber abweichend von denen der Hauptklasse, es sind nämlich *Pteropinae*.

In den normalen Fällen gehören die Bestäuber zu den *Macroglossinae*. Mit ihrer langen Pinselzunge nehmen diese sowohl Nektar als Pollen auf als ausschließliche Nahrung.

V. Die Cauliflorie.

Als Anhang möchte ich dieser Erscheinung, die in den vorigen Abschnitten bereits zur Sprache gekommen ist, einige Worte widmen. Zahlreich sind die Auffassungen über die Bedeutung dieser für die Tropen so charakteristischen Erscheinung. Alte, vielfach widerlegte Auffassungen (Johow u. a.) suchten die Erklärung in der Schwere der tropischen Früchte. Wallace meint, die Cauliflorie als Anpassung an Schmetterlingsbesuch auffassen zu müssen. Die Behauptung, daß viele tropische Schmetterlinge mit Vorliebe den Waldesschatten und die Nähe des Bodens aufsuchen und Bestäuber der Caulifloren sind, ist aber nie bestätigt worden. Schimper hat in seiner „Pflanzengeographie" die Erklärung für das ausschließliche Vorkommen in den Tropen darin gesucht, daß dort die Rinde weniger entwickelt oder weniger zähe ist. Haberlandt sieht sie in seiner „Botanischen Tropenreise" als ein räumliches Auseinanderhalten der vegetativen und der generativen Funktionen, bei dem die Laubkrone rein vegetativ bleibt.

Beccari kam in „Malesia" III zu dem Schluß, die Cauliflorie bei Durio sei eine Schutzvorrichtung gegen blütenfressende Fledermäuse (*Pteropus* c. s.). Trotzdem er an einer anderen Stelle mit der Möglichkeit rechnet, daß *Macroglossus* die *Durio*-Blüten bestäubt, sieht er hier die Sache doch ganz falsch. Er meint nämlich, daß die Lage an den Stämmen und dicken Ästen die Blüten für Fledermäuse unerreichbar macht.

Hallier [12] kam auf andere Weise der Wahrheit ganz nahe. Es fiel ihm bereits auf, daß Cauliflorie oft verbunden ist mit übelriechenden Blüten (die einzige übelriechende *Convolvulacea* ist die einzige cauliflore). Er wies bereits auf die häufig vorkommende fleischige Beschaffenheit und die trübe Farbe der Krone (oder der Früchte bei *Ficus*) bei Caulifloren. Jedoch am Schluß, wo er all dies als Dipterenanpassung erklärt, schlägt er einen falschen Weg ein.

Wir wollen hier einen anderen Weg gehen und die Cauliflorie als Fledermausanpassung betrachten (siehe S. 37 ad 8 und S. 30). Nur

in den Tropen, wo fruchtfressende und honigleckende Fledermäuse vorkommen, ist deswegen Cauliflorie zu finden.

Diese Auffassung stimmt ohne weiteres für *Crescentia*, *Parmentiera* und *Durio*, bei denen Besuch der *Macroglossinae* festgestellt ist, *Erycibe* wird sich wohl anschließen[1]). Bei den *Sapotaceae* finden wir wahrscheinlich die Cauliflorie in ihren Anfangszuständen. Bei *Palaquium gutta* stehen die Blüten in den Achseln der untersten Blätter und in denen der bereits abgefallenen Blätter, bei *P. quercifolium* und *Madhuca* nur an letzterer Stelle an den bereits verdickten Zweigen. Wenn die Blütenentfaltung noch länger zurückgeschoben wird, entsteht Cauliflorie, wie bei *P. Beccarii* Pierre. Unter den anderen *Sapotaceae* ist dieser Zustand bei *Diploknema* (*Madhuca*) *ramiflora* H. J. L. und *Omphalocarpum*-Arten erreicht. Die Blütenbiologie dieser Arten soll so schnell wie möglich untersucht werden.

Wie steht es jedoch mit den vielen nicht-chiropterophilen Cauliflorenˀ Hier ist die Cauliflorie meines Erachtens eine Anpassung an die Samenverbreitung durch Fledermäuse der Subfamilie der *Pteropinae*.

In einem früher zitierten Aufsatz [23] habe ich diese Auffassung bereits verteidigt und auch andere Besonderheiten tropischer Früchte auf Fledermäuse bezogen[2]). Es stellte sich dabei heraus (siehe auch S. 27), daß viele tropische Früchte mit den chiropterophilen Blüten übereinstimmende Merkmale besitzen, und daß ihre Stellung am Stamm das Pflücken möglich macht. Bei vielen Gattungen (*Phyllanthus*, *Cynometra*, *Averrhoa*, *Ficus*, *Anona*, *Eugenia*) wurde bewiesen, daß die stammbürtigen Früchte von Fledermäusen verschleppt werden. Bei der Gattung *Ficus* ist besonders deutlich zu sehen, wie die Arten mit hellgefärbten, kleinen zweigständigen Früchten von Vögeln bevorzugt werden und jene mit großen, trübgefärbten, übelriechenden, stammbürtigen Früchten von Fledermäusen.

Es bleiben natürlich manche Fälle, zumal wenn auch Geocarpie vorliegt, durch diese Auffassung unerklärt. Wenn die Cauliflorie dort nicht bedeutungslos geworden ist, so kann vielleicht eine der vorhergenannten Auffassungen dabei angewendet werden.

---

1) und *Amphitecna macrophylla* (s. Fußnote auf S. 29).

2) Die im obengenannten Aufsatz besprochenen Ausführungen bedürfen einiger Ergänzungen, nämlich daß der hier genannte Jäger stets auf *Cynopterus* lauerte unter Loa-Bäumen (*Ficus glomerata* Roxb.), und daß in einem der dort gefangenen *Cynopterus*-Exemplare Samen dieser caulifloren Baumart vorhanden waren. Weiter soll erwähnt werden, daß ich unter einem *Pteropus*-Schlafbaum später doch einige *Ficus*-Samen in den Auswürfen fand. Die Aussage, daß *Pteropus* eine geringere Bedeutung als Samenverbreiter hat als man oft meint, soll nicht dahin verstanden werden, daß diese Bedeutung nihil ist. In der Biologie sind oft die relativ seltenen Ereignisse, wenn sie nur regelmäßig (sei es auch in großen Zwischenräumen) auftreten, sehr belangreich.

Dr. K. Dammermann, zur Zeit Leiter des Botanischen Gartens in Buitenzorg, stellte mir freundlicherweise alle Hilfsmittel zur Verfügung. Dr. C. G. J. van Steenis gab mancherlei Auskunft in systematischer Hinsicht. Beiden Herren spreche ich meinen aufrichtigen Dank für ihre Hilfe aus.

September 1935.

Literaturverzeichnis.

1) Bartels, M., Zur Lebensweise von *Eonycteris spelaea* Dobs. Bull. Dep. Agric. Ind. Neerl. **13** (1908). — 2) Beccari, O., Malesia **3,** 201 (1886—1890). — 3) Berger, A., Die Agaven. Jena 1915. — 4) Boedijn en Danser, Bestuiving van Durio door vleermuizen? De Tropische Natuur 1929, S. 156. — 5) Cammerloher, H., Javanische Studien II. Österr. Bot. Zeitschr. **77** (1928). — 6) McCann, Ch., On the fertilization of the flowers of the sausage tree (*Kigelia*) by bats. Journ. Bomb. Nat. Hist. Soc. 1931, S. 467. — 7) Ders., The flying-fox (*P. giganteus*) and the Palm squirrel (*F. tristriata*) as agents of pollination in *Grevillea robusta*. Ebenda 1932, S. 761. — 8) Ders., Notes on the Flying-fox (*Pteropus giganteus*). Ebenda 1933. — 9) Danser, Bestuiving van Parkia door vleermuizen. De Tropische Natuur 1929, 118. — 10) Docters van Leeuwen, W. M., Vögelbesuch an den Blüten von einigen *Erythrina*-Arten auf Java. Ann. Jard. Bot. Buitenz. **41** (1931). — 11) Ders., Bestuiving van Parkia door vleermuizen en bijen. De Tropische Natuur 1933, 199. — 12) Hallier, H. Bausteine zu einer Monographie der Convolvulaceen, 4. Bull. Herb. Boissier 1897, 736. — 13) Harreveld-Lako, V. H. van, *Adansonia digitata* L. De Baobab of Apenbroodboom. De Tropische Natuur 1925, 157. — 14) Heide, F. F. R., Observation on the pollination of some flowers in the Dutsch East Indies. Dansk. Bot. Ark. 1927, S. 1. — 15) Heurn, W. C. van, Bestuiving van Parkia door vleermuizen. De Tropische Natuur 1929, 140. — 16) St. John, H., The Sausage Tree. The Paradise of the Pacific 1933, 5. — 17) Knuth, P., Neue Beobachtungen über fledermausblütige Pflanzen. Bot. Centralbl. **70,** 337 (1897). — 18) Ders., Handbuch der Blütenbiologie. Leipzig. — 19) Lindman, C. A. M., Die Blüteneinrichtungen einiger südamerikanischer Pflanzen. Bih. K. Svensk. Vet.-Akad. Handl., 1902, No. 14. — 20) Pijl, L. van der, Uit het leven van enkele gevoelige tropische bloemen. De Tropische Natuur 1930, 192. — 21) Ders., The relations between flowers and higher animals. Hongkong Naturalist 1934, 176. — 22) Ders., De bestuiving van Kapok (*Ceiba pentandra*) en Pisang (*Musa paradisiaca*) door vleermuizen. De Tropische Natuur 1935, 37. — 23) Ders., Zaadverspreidung door vleermuizen. Ebenda 1935, 131. — 24) Porsch, O., Bericht über die Studienreise nach Java. Akad. Anzeiger Wien 1915. — 25) Ders., Methodik der Blütenbiologie. Abderhalden **XI,** T. 1, 480 (1922). — 26) Ders., (Referat). Ztschr. f. Bot. **20,** 102 (1928). — 27) Ders., *Crescentia*, eine Fledermausblume. Österr. Bot. Zschr. **80,** 31 (1931). — 28) Ders., Das Problem Fledermausblume. Anz. Akad. Wiss. Wien 1932. — 29) Ders., Säugetiere als Blumenausbeuter und die Frage der Säugetierblume I. Biologia Gen. 1934, 657. — 30) Spennemann, A., Vögel und Blumen. Ardea 1932, 13. — 31) Werth, E., Kurzer Überblick über die Gesamtfrage der Ornithophilie. Engl. Bot. Jahrb. **53,** Beibl. Nr. 116, 334. — 32) Winkler, H., Morphologie und Biologie der Blüte von *Durio zibethinus*. Ber. d. D. Bot. Ges. 1905. — 33) Ders., Beiträge zur Morphologie und Biologie tropischer Blüten und Früchte. Engl. Bot. Jahrb. 1907.

Zur Morphologie des Gynoeceums der Phytolaccaceen.

Von **Hansjakob Schaeppi**, Zürich/Halle a. d. S.

Mit 11 Abbildungen im Text.

Aus dem Botanischen Institut der Universität Halle.

Einleitung.

Die *Phytolaccaceen* nehmen innerhalb der Reihe der Centrospermae eine außerordentlich wichtige Stellung ein. So nimmt Pax (1889) an, daß von dieser Familie alle übrigen Gruppen der Reihe abzuleiten sind, während Wettstein (1935) in den *Phytolaccaceen* diejenige Familie erblickt, die den Übergang von den einfacheren zu den höher entwickelten Gruppen vermittelt. Diese Ableitungen stützen sich vornehmlich auf die Verhältnisse des Blütendiagramms, die vor allem durch Eichler (1878) und Walter (1906) eine eingehende Untersuchung erfahren haben. Für die systematische Einteilung der *Phytolaccaceen* ist neben weiteren Merkmalen in erster Linie die Ausbildung des Gynoeceums maßgebend. Doch sind gerade diese Verhältnisse recht wenig untersucht; lediglich Payer (1857) gibt einige Angaben über die Entwicklungsgeschichte der Blüten dieser Familie. Eine eingehende vergleichend-morphologische und entwicklungsgeschichtliche Betrachtung des *Phytolaccaceen*-Gynoeceums mußte daher von Interesse sein. Es ergeben sich dabei im besonderen noch die folgenden Fragen.

Innerhalb des Genus *Phytolacca* finden sich Arten, deren Karpelle vollkommen frei sind, während andere Arten mehr oder weniger weitgehend verwachsene Fruchtblätter besitzen. Dabei mußte besonders die Frage nach der Art und Weise und nach dem Grad der Karpellverwachsung interessieren; woraus sich weiter die Frage ergibt, ob das Gynoeceum derjenigen Formen, die sich durch verwachsene Fruchtblätter auszeichnen, als typisch coenocarp im Sinne von Troll (1928) betrachtet werden kann, oder ob bei diesen Arten lediglich eine Modifikation von Apocarpie vorliegt.

In neuester Zeit hat E. R. Saunders den Leitbündelverlauf in den Karpellen einiger Phytolaccaceen studiert. Auf Grund dieser Untersuchungen kommt die Autorin zu folgendem Resultat (1930, S. 95):

„In the Rivineae the ovary, hitherto regarded as constructed of a single terminal carpel, is shown to be bicarpellary (*Ledenbergia*, *Petiveria*, *Rivina*), one carpel being of the valve type and sterile but bearing the style (if present) and stigma, the other being solid and fertile." Im Gegensatz dazu gelangten Joshi und Rao (1933), die ebenfalls den Leitbündelverlauf in den Fruchtblättern untersuchten, zu einer Bestätigung der bis dahin herrschenden Anschauung, daß das Gynoeceum der Rivineae aus einem einzigen Karpell besteht. Im Zusammenhang damit erscheint es wünschenswert, diese Verhältnisse noch von einer anderen, nämlich der entwicklungsgeschichtlichen Seite aus zu betrachten.

Ich verdanke die Anregung sowie das Material zu der vorliegenden Arbeit Herrn Prof. Dr. W. Troll. Für seine freundliche Unterstützung während der Durchführung der Untersuchungen spreche ich ihm meinen ergebensten Dank aus.

I. Phytolacca.

Aus dem Subgenus Pircunia, dessen Vertreter durch vollkommen freie Karpelle charakterisiert sind, wurde die Spezies *Phytolacca esculenta* van Houtte untersucht. Die Anzahl der Fruchtblätter schwankt bei dieser Art zwischen 7 und 9, meist sind es deren 8. Wie der Längsschnitt durch den Fruchtknoten (Fig. 1a) zeigt, sitzen die Karpelle der Blütenachse seitlich an. Die Karpellspreite umgibt die einzige Samenanlage von allen Seiten und läßt nur innen, unmittelbar über der schwach vorgewölbten Blütenachse einen schmalen Spalt frei. Dieser ist jedoch durch ein „Gewebe" von dicht ineinander verflochtenen Papillen (in der Fig. 1a getönt) ausgefüllt. Die Samenlagen entspringen scheinbar aus der Blütenachse; sie sind kampylotrop, und ihre Mikropylen sind nach unten und außen gerichtet.

Fig. 1. *Phytolacca esculenta*. a Längsschnitt durch den Fruchtknoten; b Sektor aus einem Blütenvegetationspunkt mit Karpellanlagen von oben gesehen; c und d Längsschnitte durch das junge Gynoeceum; Erklärungen im Text. (Vergr. a 12,5-, b 50-, c und d 25fach.)

Querschnitte durch den Fruchtknoten von *Phytolacca esculenta* bieten die folgenden Bilder: Die Fig. 2a stellt einen Schnitt durch die Region der Griffel dar. Diese haben im Querschnitt rundliche bis ovale

Form. Die Oberseite der Karpelle ist in dieser Region stark eingeschränkt und nur als kleine Rinne ausgebildet. In dieser finden sich Papillen, die im obersten Griffelabschnitt, der eigentlichen Narbenregion, etwas größer sind als weiter unten. Einen in der Höhe der Karpellhöhlungen geführten Querschnitt zeigt die Fig. 2b. Man erkennt, daß die Fruchtblätter seitlich dicht aneinander gelagert sind, ohne aber verwachsen zu sein, während sie in der Mitte zwischen sich einen Hohlraum freilassen. Die zentrale Partie aus einem Querschnitt unmittelbar unterhalb des Kulminationspunktes der Blütenachse ist in der Fig. 2c dargestellt. In der Mitte ist die Achse getroffen, darum herum die in radialer Richtung verlaufenden Seitenwände der Karpelle und zwischen diesen die Fruchtblatthöhlungen mit den Samenanlagen. Ganz innen zeigen die Ränder von zwei benachbarten Karpellen eine, wenn auch nur sehr kurze verwachsene Zone. Es ist dies die einzige Stelle, an der die Fruchtblätter von *Phytolacca esculenta* miteinander verwachsen sind. Der Raum zwischen der Blütenachse und den Karpellhöhlungen ist von dem papillösen Gewebe erfüllt (in der Fig. 2c getönt). Ein noch tiefer geführter Schnitt durch das Gynoeceum dieser Art (Fig. 2d) zeigt, daß die Fruchtblätter auch in ihrem untersten Teil untereinander vollkommen frei sind. Die Karpellspreite wird bei *Phytolacca esculenta* von drei Leitbündeln innerviert, einem medianen und zwei lateralen. Die Samenanlage wird durch einen einzigen, direkt aus der Blütenachse kommenden Strang versorgt.

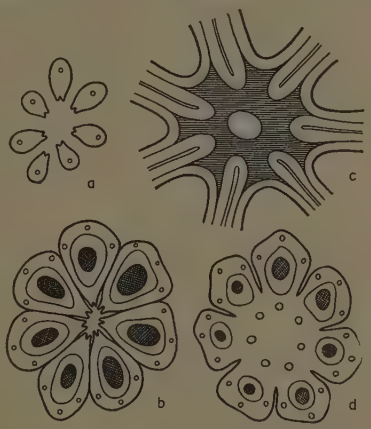


Fig. 2. *Phytolacca esculenta*. Querschnitte durch den Fruchtknoten. Erklärungen im Text. (Vergr. a, b und d 12,5-, c 25fach.)

Die Karpelle von *Phytolacca esculenta* entstehen als halbringförmige Wülste, die dem Blütenvegetationspunkt in einem Kreise angeordnet, seitlich ansitzen (Fig. 1b). In der Vertiefung zwischen diesen Wülsten und der Blütenachse differenziert sich ein rundlicher Körper, das ist die zukünftige Samenanlage. Die Karpellspreite wächst rasch heran und überdacht und umgibt die Samenanlage von außen und von den Seiten (Fig. 1c; in dieser Figur ist das rechte Fruchtblatt median, das linke tangential getroffen, in der Fig. 1d umgekehrt). Während

die Karpellspitze zum Griffel auswächst, entsteht unterhalb derselben und unmittelbar über der Samenanlage an der Karpellspreite eine Verdickung (in der Fig. 1d mit *W* bezeichnet). Diese verschließt zusammen mit den Seitenwänden des Fruchtblattes die Karpellhöhlung nach innen mit Ausnahme eines schmalen Spaltes unmittelbar über der Achse.

Alle übrigen untersuchten *Phytolacca*-Arten gehören dem Subgenus Euphytolacca an, in dem Formen mit verwachsenen Fruchtblättern zusammengefaßt sind. Es sei zunächst *Phytolacca polyandra* Batalin einer eingehenderen Betrachtung unterzogen; bei den weiteren Arten ist dann nur noch auf Besonderheiten hinzuweisen.

Der Fruchtknoten von *Phytolacca polyandra* besteht meist aus acht Karpellen. Im Längsschnitt zeigt das Gynoeceum dieser Art nur geringe Unterschiede gegenüber dem von *Phytolacca esculenta* (Fig. 3a). Hervorzuheben ist lediglich, daß das papillöse Gewebe, das zwischen der Blütenachse und den Karpellrändern gebildet wird, höher hinaufreicht als bei der vorhin besprochenen Art.

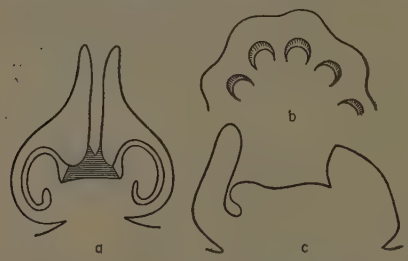


Fig. 3. *Phytalacca polyandra*. a Längsschnitt durch den Fruchtknoten; b Sektor aus einem Blütenvegetationspunkt mit Karpellanlagen von oben gesehen; c Längsschnitt durch ein junges Gynoeceum. Erklärungen im Text. (Vergr. a 12,5-, b und c 50fach.)

Auch der Querschnitt durch die Griffelregion von *Phytolacca polyandra* zeigt ganz ähnliche Verhältnisse wie bei *Ph. esculenta* (Fig. 4a). Ein Schnitt durch die oberste Fruchtknotenregion (Fig. 4b) läßt jedoch die seitliche Verwachsung der Karpelle bei dieser Art erkennen. Die Verwachsung der Fruchtblätter reicht bei *Phytolacca polyandra* ungefähr so weit hinauf, als sich in den Karpellen die Höhlungen erstrecken. Aus der Fig. 4c, die einen Schnitt durch die mittlere Partie des Fruchtknotens darstellt, ist ersichtlich, daß die Karpelle nicht mit der ganzen Fläche ihrer seitlichen Wände verwachsen sind, sondern daß ihre Ränder zuinnerst frei sind. Dies gilt jedoch nur für die mittlere Region des Gynoeceums, unmittelbar über der Achse sind die Seitenwände der Fruchtblätter vollkommen verwachsen (Fig. 4d). Abgesehen von dieser Erscheinung zeigt diese Abbildung genau diese gleichen Verhältnisse wie der entsprechende Schnitt durch den Fruchtknoten von *Phytolacca esculenta*. Aus der Fig. 4e, die einen Querschnitt durch die unterste Region des Fruchtknotens darstellt, erkennt man, daß die Karpelle auch in dieser

Zone vollkommen verwachsen sind. Wie die verschiedenen Querschnittsbilder zeigen, besitzt ein Karpell von *Phytolacca polyandra* fünf Leitbündel. Ein Strang verläuft in der Medianebene der Karpellspreite. Auf beiden Seiten desselben finden sich je zwei weitere Leitbündel. Wie bei *Phytolacca esculenta* wird die Samenanlage durch einen direkt aus der Achse kommenden Strang versorgt.

Auf eine an *Phytolacca polyandra* beobachtete Erscheinung muß noch besonders hingewiesen werden. Während die Vegetationspunkte der normalen Blüten ihr Wachstum mit der Bildung einer schwach vorgewölbten Kuppe abschließen, beobachtete ich in einem einzigen Falle das Auswachsen desselben zu einem langen, dünnen Fortsatz. Dieser erstreckte sich durch den durch die Karpelle gebildeten Kanal bis in die Griffelregion hinauf. Zu einer Verwachsung mit den Karpellen kam es nicht, hingegen bildete sich zwischen dem Achsenfortsatz und den Fruchtblättern wenigstens im untersten Teil ein dichtes, papillöses Gewebe. (Hierzu die Fig. 4f, der Achsenfortsatz in der Mitte ist schraffiert.)

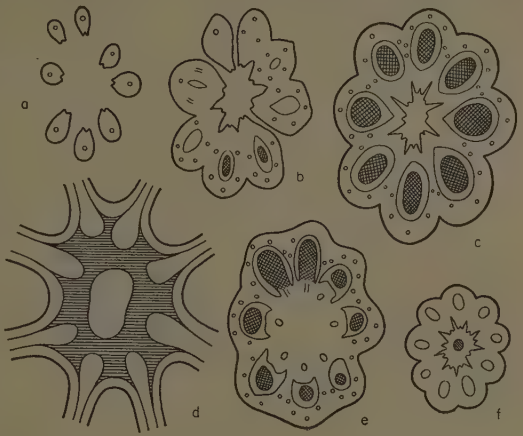


Fig. 4. *Phytolacca poylandra.* a—e Querschnitte durch den Fruchtknoten; f Querschnitt durch einen Fruchtknoten mit ausgewachsener Blütenachse (schraffiert). Erklärungen im Text. (Vergr. a—c, e und f 12,5-, d 25fach.)

Die ersten Anlagen der Fruchtblätter von *Phytolacca polyandra* erscheinen als kleine, in einem Kreise um die breite Kuppe des Vegetationspunktes der Blüte angeordnete Höcker. In diesem Stadium der Entwicklung erscheint der Blütenvegetationspunkt, von oben gesehen, achteckig, entsprechend den acht Karpellen. Aus diesen Höckern bilden sich wie bei *Phytolacca esculenta*, halbringförmige Wülste, die jedoch bei *Phytolacca polyandra* miteinander verwachsen. Die Fig. 3b zeigt ein noch etwas älteres Entwicklungsstadium, in dem die Samenanlagen sich zu differenzieren beginnen. Die weitere Entwicklung verläuft ähnlich wie bei *Phytolacca esculenta* (vgl. hierzu die Fig. 3c und 1c). Auch

bei dieser Art wird die Karpellhöhlung beinahe ganz von den Seitenwänden und dem auf der Karpelloberseite entstehenden Wulst verschlossen.

Ganz ähnliche Verhältnisse im Bau des Gynaeceums wie *Phytolacca polyandra* weisen auch die übrigen Vertreter des Subgenus Euphytolacca auf. *Phytolacca americana* L. zeichnet sich im besonderen durch das Folgende aus: Das Gynoeceum besteht bei dieser Art meist aus zehn Karpellen. Wie ein Längsschnitt durch den Fruchtknoten zeigt (Fig. 5a), bildet die Blütenachse eine breite, vorgewölbte Kuppe. Diese Erscheinung läßt sich bereits an frühen Entwicklungsstadien erkennen. Zwischen den Karpellanlagen findet man die durch den Blütenvegetationspunkt gebildete Vorwölbung (Fig. 5c). Wie Querschnitte durch den Fruchtknoten zeigen, reicht die Verwachsung der Karpelle bis über die Zone der Fruchtblatthöhlungen hinauf (Fig. 5b).

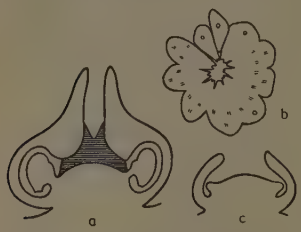


Fig. 5. *Phytolacca americana*. a Längsschnitt durch den Fruchtknoten; b Querschnitt durch die oberste Fruchtknotenregion; c Längsschnitt durch das junge Gynoeceum. Erklärungen im Text. (Vergr. a und b 12,5-, c 25fach.)

Genau die gleichen Besonderheiten, jedoch in noch verstärktem Maße, treten einem bei der Betrachtung des Gynoeceums von *Phytolacca octandra* L. entgegen. Die Anzahl der Karpelle im Fruchtknoten schwankt bei dieser Art zwischen acht und zehn. Während bei *Phytolacca americana* die Blütenachse als breite, vorgewölbte Kuppe abschließt, setzt sie sich bei *Ph. octandra* als kegelförmiges Gebilde fort, das in den durch die Karpelle gebildeten Kanal hineinragt. Über diesem Fortsatz ist der Kanal bis weit hinauf mit papillösem Gewebe erfüllt (Fig. 6a). Ein Unterschied gegenüber den bis dahin besprochenen Arten muß besonders hervorgehoben werden. Die Karpelle von *Phytolacca octandra* zeigen insofern eine innigere Verwachsung, als bei dieser Art die seitlichen Wände auch im obersten Fruchtknotenabschnitt ganz verwachsen sind. Die Fig. 6b zeigt einen Querschnitt durch diese oberste Region. Man erkennt, daß die Seitenwände der Fruchtblätter auch in diesem Abschnitt beinahe in ihrer ganzen Ausdehnung miteinander verbunden sind, während bei *Phytolacca polyandra*, dasselbe gilt in schwächerem Maße auch für *Ph. americana*, die Karpelle in dieser Höhe zuinnerst frei sind.

Ebenfalls eine sehr innige Verwachsung der Karpelle zeigt die letzte noch zu besprechende Art, *Phytolacca icosandra* L. Auch bei dieser Art sind die Fruchtblätter, deren Anzahl zwischen sieben und zehn

variiert, über die Region der Karpellhöhlungen hinaus miteinander verwachsen. Das Längsschnittsbild (Fig. 6c) zeigt einen auffallenden Unterschied gegenüber den anderen Arten. Während bei den besprochenen Arten das Fruchtblatt sich allmählich zum Griffelabschnitt verschmälert, ist bei *Phytolacca icosandra* ein scharfer Absatz erkennbar. Der Griffel sitzt als dünner Fortsatz der die Karpellhöhlung bildenden Spreite auf. Wie bei *Phytolacca octandra* bildet die Blütenachse auch bei dieser Art einen kegelförmigen Fortsatz, der in den durch die Fruchtblätter gebildeten Kanal hineinragt.

Die Entwicklungsgeschichte der Blüten von *Phytolacca decandra* und *Ph. isocandra* ist von Payer untersucht worden. Er schreibt (1857, S. 304): „Quand toutes les étamines sont nées, on voit poindre sur le réceptacle dix mamelons carpellaires, .. Ces dix mamelons carpellaires, d'abord distincts, deviennent promptement connés à leur base, et l'on remarque en même temps une petite excavation au pied de chacun d'eux. Le pistil présente alors l'aspect d'une plate-forme circulaire dont le pourtour serait creusé de dix petites logettes." Die ersten Entwicklungsstadien des Gynoeceums dieser Arten sind also ganz gleich wie bei *Phytolacca polyandra*.

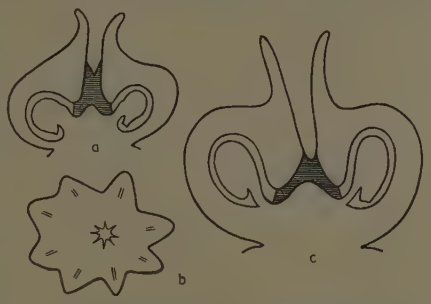


Fig. 6. a Längsschnitt durch den Fruchtknoten; b Querschnitt durch die oberste Fruchtknotenregion von *Phytolacca octandra*; c Längsschnitt durch das Gynoeceum von *Ph. icosandra*. Erklärungen im Text. (Vergr. a—c 12,5fach.)

In der Einleitung ist die Frage aufgeworfen worden, ob das Gynoeceum derjenigen Formen, die sich durch Verwachsung der Karpelle auszeichnen, als typisch coenocarp oder als modifiziert apocarp zu bezeichnen ist. Zur Lösung dieser Frage sollen die folgenden vergleichenden Betrachtungen dienen.

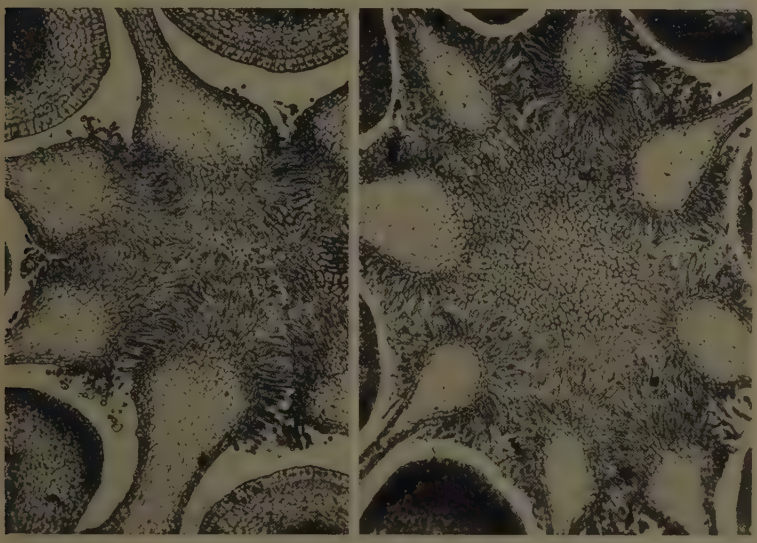
Ein Vergleich der fertigen Fruchtknoten der untersuchten Arten zeigt, daß bei allen Formen die Karpelle eine verwachsene Zone besitzen. Bei *Phytolacca esculenta* ist diese allerdings nur wenig umfangreich. Sie ist beschränkt auf die unterste Zone der seitlichen Karpellränder unmittelbar über der Blütenachse (Fig. 2c). Bei den anderen Spezies sind die seitlichen Flächen der Fruchtblätter verwachsen, aber in verschiedenem Grade. Am innigsten ist die Verwachsung bei *Ph. oc-*

tandra. Bei dieser Art sind die seitlichen Karpellflächen beinahe bis ganz innen und über die Zone der Karpellhöhlungen hinaus miteinander verwachsen (Fig. 6b). Bei *Ph. polyandra* hingegen sind die inneren Teile der Karpellränder im mittleren und oberen Fruchtknotenabschnitt frei, und die Verwachsung der Karpelle reicht nicht über die Region der Fruchtblatthöhlungen hinaus (Fig. 4b und c). Die beiden weiteren Arten aus dem Subgenus Euphytolacca bilden Übergangsformen zwischen den beiden erwähnten Fällen, wobei das Gynoeceum von *Phytolacca americana* demjenigen von *Ph. polyandra* ähnlich ist, während der Fruchtknoten von *Ph. isocandra* demjenigen von *Ph. octandra* gleicht.

Trotz dieser Verwachsung kommt es bei den Arten aus dem Subgenus Euphytolacca weder zur Bildung einer zentralen Fruchtknotenhöhle (paracarpes Gynoeceum), noch zur Bildung eines gefächerten Fruchtknotens (syncarpes Gynoeceum), wie die verschiedenen Querschnittsbilder deutlich zeigen.

Es unterliegt keinem Zweifel, daß die Verwachsung der Karpelle bei Phytolacca durch ein direktes miteinander-in-Verbindung-Treten der Fruchtblätter zustandekommt, und nicht, wie man vermuten könnte, durch die Vermittlung von Achsengewebe, wie dies von Troll (1932b und 1933) bei *Limnocharis* und *Nigella* (falsches coenocarpes Gynoeceum) festgestellt wurde. Das Gewebe der Blütenachse spielt beim Aufbau des Gynoeceums von *Phytolacca* in anderer Hinsicht eine große Rolle. Es ist schon mehrfach auf das papillöse „Gewebe", das den untersten Teil des durch die Fruchtblätter gebildeten Kanals ausfüllt, hingewiesen worden. Dieser Gewebekomplex entsteht durch die Verflechtung von Papillen, die teils von der Blütenachse, teils von den Karpellrändern gebildet werden. An Längsschnitten durch junge Blütenknospen beobachtet man, daß die äußersten Zellschichten der Achse sowie der Karpellränder embryonal bleiben, während das umliegende Gewebe sukzessive in den Dauerzustand übergeht. Aus dieser Schicht bilden sich die Papillen. Die Fig. 7a zeigt die mittlere Partie eines Querschnittes durch den Fruchtknoten von *Phytolacca polyandra* unmittelbar über dem Kulminationspunkt der Blütenachse. Man erkennt die Papillen-„Bärte" um die Karpellränder herum und in der Mitte des Bildes einzelne, im Schnitt runde Zellen, das sind die von der Achse aufsteigenden Papillen im Querschnitt. Ein etwas tiefer geführter Querschnitt gewährt das in der Fig. 7b dargestellte Bild. In der Mitte findet man das Achsengewebe, darum herum die dicht aneinander gelagerten Papillen, die von der Epidermis des Blütenvegetationspunktes gebildet wurden, und schließlich außerhalb derselben die Papillen der Karpellränder.

Es ist bereits darauf hingewiesen worden, daß sich dieses papillöse „Gewebe" nicht bei allen Arten gleichweit in den durch die Fruchtblätter gebildeten Kanal hinauf erstreckt. Am stärksten ist es bei *Phytolacca octandra* entwickelt, wo es bis über die Region der Karpellhöhlungen hinaufgreift. Hinzukommt, daß bei dieser Art und bei *Ph. isocandra* die Achse einen kegelförmigen Fortsatz bildet. Diese Verhältnisse mögen Veranlassung gegeben haben zu der unrichtigen Darstellung des Fruchtknotens von *Phytolacca* durch Walter (1909, S. 52, Fig. 17G). Nach



a b

Fig. 7. *Phytolacca polyandra*. Zentrale Partie aus Querschnitten durch den Fruchtknoten. a unmittelbar über; b unmittelbar unter dem Kulminationspunkt der Blütenachse. Erläuterungen im Text. (Vergr. 80fach.)

dieser Darstellung wären die Fruchtblätter in der Mitte vollkommen verwachsen; dem ist jedoch nicht so, sondern die Karpelle von *Phytolacca* lassen in der Mitte zwischen sich einen Kanal frei, der in seinem untersten Teil durch Papillen ausgefüllt ist.

Eine vergleichende Betrachtung der Entwicklungsgeschichte des Gynoeceums bei den untersuchten Arten ergibt, daß die ersten Anlagestadien der Karpelle bei allen Formen gleich sind. Die Fruchtblätter entstehen als voneinander freie Höcker, die zu halbringförmigen Wülsten auswachsen. Diese Wülste treten bei den Arten aus dem Subgenus

Euphytolacca auf diesem Stadium miteinander in Verbindung, während bei *Phytolacca esculenta* die Fruchtblätter frei bleiben. Wie Troll (1928) feststellte, kommt es jedoch bei den typisch coenokarpen Gynoeceen nicht zu einer nachträglichen Verwachsung ursprünglich freier Teile, wie dies eben von Phytolacca beschrieben wurde, sondern die Karpelle treten von vornherein miteinander in Verbindung auf.

Verwachsene Blütenteile desselben Kreises zeichnen sich neben ihrer gemeinsamen Entstehung noch durch eine weitere Erscheinung, nämlich durch das Auftreten von Zwischenbündeln, aus. Die lateralen Leitbündel von zwei benachbarten Blättern verschmelzen zu einem einzigen Strang, der in der Trennungslinie der beiden Blätter verläuft. Eames, der diese Verhältnisse für alle Blütenkreise eingehend untersucht hat, stellte im besonderen für das Gynoeceum fest (1931, S. 166): "In the ovary the effects of cohesion are similar: vascular bundles which lie close to one another becomes fused wherever the union of carpels has become intimate." Als Beispiel für das Auftreten von Zwischenbündeln in einem coenocarpen Gynoeceum sei auf die Verhältnisse bei *Reseda* hingewiesen (vgl. Troll, 1928). In dem erwähnten Beispiel sind die Zwischenbündel viel kräftiger entwickelt als die medianen, sie sind zugleich Plazentarbündel. Bei *Phytolacca* wird, wie erwähnt, die Karpellspreite von einem medianen und von einem oder zwei lateralen Bündeln auf beiden Seiten durchzogen. Die letztgenannten Leitbündel sind Äste des medianen, sie vereinigen sich unmittelbar über der Ansatzstelle der Karpellspreite zu einem einzigen Strang, der in die Achse eintritt. Wie die Fig. b, e der Fig. 4 zeigen, kommt es im Gynoeceum von *Phytolacca polyandra* nicht zur Bildung von Zwischenbündeln, sondern die lateralen Stränge verlaufen einzeln für sich, obschon die Leitbündel von zwei benachbarten Fruchtblättern zum Teil sehr nahe beieinander liegen. Dasselbe gilt auch für die übrigen Arten der Untergattung Euphytolacca. Der Leitbündelverlauf in den Karpellen von *Phytolacca esculenta* ist also gleich wie in den Fruchtblättern der Arten aus dem Subgenus Euphytolacca. Die Bedingung für das Auftreten von Zwischenbündeln, die Eames erwähnt, nämlich die innige Verwachsung, ist offenbar nicht erfüllt. Die Verbindung der Fruchtblätter bei *Phytolacca* ist nur oberflächlich und hat keine Veränderungen der inneren Struktur hervorgerufen. Zum Vergleich sei auf die Verwachsung und die Nervatur der Kelchblätter bei den Labiaten hingewiesen. An diesen konnte Eames (1931) alle Übergangsstadien von nur wenig verwachsenen Kelchblättern ohne Zwischenbündel bis zu innig verwachsenen mit Zwischenbündeln feststellen. Die hier für *Phytolacca*

beobachteten Verhältnisse würden somit dem geringsten Grade von Verwachsung entsprechen.

Diese vergleichenden Betrachtungen über den Bau, die Entwicklungsgeschichte und die Nervatur des Gynoeceums von *Phytolacca* zeigen mit aller Deutlichkeit, daß auch der Fruchtknoten der Arten aus der Gruppe Euphytolacca als apocarp bezeichnet werden muß. Diese Apocarpie wird bei den genannten Arten etwas durch die oberflächliche, seitliche Verwachsung der Karpelle modifiziert.

Die Plazentation bei den *Phytolaccaceen* ist durch die Zugehörigkeit der Familie zu der Reihe der Centrospermae als zentral charakterisiert. Die Tatsache, daß die Samenanlagen bei *Phytolacca* scheinbar aus der Blütenachse hervorgehen, läßt die Vermutung aufkommen, daß die Karpelle peltate Organe sind, deren Stiel vollkommen reduziert und deren Querzone mit der Achse verwachsen ist. Die einzige Samenanlage jedes Fruchtblattes würde somit auf der Querzone stehen, die jedoch vollständig mit dem Achsengewebe verwachsen ist und von diesem nicht unterschieden werden kann. (Vgl. hierzu die Fig. 1a, in der die vermutete Grenze zwischen Achsen- und Fruchtblattgewebe durch die gestrichelte Linie angegeben ist.) Zum Vergleich damit sei auf die Verhältnisse bei *Alisma* hingewiesen, die von E. Eber (1934, S. 289 und Fig. 8) untersucht worden sind. Bei *Alisma Plantago* z. B. ist die Blütenachse wie bei *Phytolacca* kegelförmig entwickelt, so daß der Anschein erweckt wird, als ob die Samenanlagen auf der Achse stehen würden.

Ob nun die geäußerte Ansicht für *Phytolacca* richtig ist, läßt sich auf Grund der Entwicklungsgeschichte nicht beweisen, da auf keinem Entwicklungsstadium Querzone der Karpelle und Blütenachse getrennt festgestellt werden können. Hingegen wird die Betrachtung des Gynoeceums der Rivineae Schlüsse auf die Richtigkeit dieser Ansicht erlauben, sofern wenigstens sich die bisher herrschende Auffassung, daß das Gynoeceum dieser Gruppe der *Phytolaccaceen* aus einem einzigen Karpell besteht, bestätigt. An einem einzigen, terminal stehenden Fruchtblatt muß sich nämlich die Querzone nachweisen lassen, wie dies Troll (1932a) und E. Eber (1934) für *Consolida* feststellen konnten. Während bei *Helleborus*, *Aconitum* und *Delphinium*, die alle mehrere Karpelle besitzen, der Schildblattcharakter durch das starke Hervortreten der Blütenachse schon auf den frühesten Entwicklungsstadien verwischt wird (Karpelle mit latenter Peltation), kann sich bei dem einzigen und terminal stehenden Fruchtblatt von *Consolida* die Querzone frei entwickeln.

Es besteht jedoch noch eine zweite Möglichkeit, die Schildform eines Blattes nachzuweisen. Wie Troll (1932a) feststellte, haben alle peltaten Blätter unifaziale Stiele. Diese Unifazialität der Blattstiele zeigt sich in einer vollständigen Reduktion der Oberseite und in dem ungefähr runden Querschnitt. Entsprechend der Einschränkung der Oberseite liegen die Leitbündel in einem Kreise mit ihrem Hadrom nach innen gewendet. Dabei kommt es oft zu einer Verschmelzung der beiden äußersten Leitbündel zu einem einzigen Strang, dem Ventralmedianus, der dem Dorsalmedianus, der der Mittelrippe entspricht, gegenüberliegt. (Vgl. hierzu Troll 1932a, S. 166f. und 298f.) Bei *Phytolacca* ist ein Karpellstiel nicht nachweisbar, hingegen muß der Leitbündelverlauf über die Frage der Schildform des Fruchtblattes Aufschluß geben können. Als Dorsalmedianus ist dasjenige Leitbündel zu bezeichnen, das die Karpellspreite (abaxiale Seite) durchzieht. In diesem und in den davon abzweigenden Strängen liegt das Hadrom wie in allen Blättern auf der Oberseite. Die Samenanlage wird, wie bereits erwähnt, durch einen direkt aus der Achse kommenden Strang versorgt. Wenn die geäußerte Ansicht, daß die Karpelle von *Phytolacca* peltate Organe sind, richtig ist, dann muß das Leitbündel der Samenanlage dem Ventralmedianus entsprechen, d. h. umgekehrte Lagerung von Hadrom und Leptom zeigen. Wie die schematische Darstellung des Leitbündelverlaufes in der Basis eines Fruchtblattes von *Phytolacca* in der Fig. 8 zeigt, ist dem in der Tat so. In dem die Samenanlage innervierenden Leitbündel liegt das Hadrom nach der abaxialen, das Leptom nach der adaxialen Seite zu, also umgekehrt gegenüber der Lagerung von Holz- und Siebteil im Dorsalmedianus. Verfolgt man Dorsal- und Ventralmedianus noch weiter nach unten, so stellt man fest, daß sie sich immer mehr nähern und schließlich zu einem einzigen bikollateralen Bündel mit dem Hadron in der Mitte verschmelzen. Dieses, das ganze Karpell versorgende Leitbündel weist genau den gleichen Bau auf, wie der Strang, der den Stiel der peltaten Karpelle von *Thalictrum* (Troll 1932a, S. 298f.) durch-

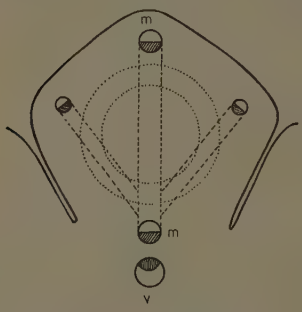


Fig. 8. *Phytolacca*. Schematische Darstellung des Leitbündelverlaufes in der Basis eines Fruchtblattes. Bezeichnungen: *m* Dorsalmedianus; *v* Ventralmedianus. In den Leitbündeln ist das Hadrom schraffiert. Die gestrichelten Linien geben den Verlauf der Leitbündel, die punktierten die Lage der Karpellhöhlung bzw. der Samenanlage an. Weitere Erklärungen im Text.

zieht. Es steht somit fest, daß der Leitbündelverlauf in den Karpellen von *Phytolacca* demjenigen von peltaten Fruchtblättern entspricht.

Noch kurz sei auf die Wachstumsverhältnisse in den Griffeln von *Phytolacca* hingewiesen. Die Griffel zeigen, wie bereits erwähnt, im Querschnitt rundliche bis ovale Form. Der überwiegende Anteil der Oberfläche entspricht der morphologischen Unterseite des Karpells, während die Oberseite nur als kleine Rinne ausgebildet ist (Fig. 2a und 4a). Schnitte durch ganz junge Griffel zeigen, daß das embryonale Gewebe nicht über den ganzen Querschnitt verteilt ist, sondern daß sich auf der Oberseite ein Bildungsgewebe befindet, während auf der Unterseite die Zellen sukzessive in den Dauerzustand übergehen. Dieses Meristem bildet einerseits nach oben hin Papillen, welche die der Karpelloberseite entsprechende Rinne ausfüllen (Leitungsgewebe für die Pollenschläuche). Andererseits gliedert das Meristem nach der Unterseite zu durch tangentiale Teilungen Zellen in großer Anzahl ab, die im ausgewachsenen Griffel als Zellreihen, die in radialer Richtung von der eingeschränkten Oberseite nach der Unterseite hin verlaufen, erkennbar sind. Dadurch, daß die embryonalen Zellen in radialer Richtung nur wenige Teilungen erfahren, vergrößert sich die Oberseite kaum. Ähnliche Verhältnisse zeigen sich in der Entwicklungsgeschichte mancher Blattstiele, die vor allem durch Bouygues (1902) genauer untersucht worden sind. Zum Vergleich sei auf die Bildung des Blattstieles von *Acer* verwiesen, worüber Goebel folgendes feststellte (1933, S. 1517): „Die Entwicklungsgeschichte zeigt, daß die Herausbildung des fast zylindrischen Blattstiels aus einer abgeflachten embryonalen Blattanlage nachträglich durch die Tätigkeit eines Teilungsgewebes auf der Oberseite erfolgt."

II. Rivina.

Die beiden im folgenden zu besprechenden Gattungen, *Rivina* und *Petiveria*, gehören der Tribus der *Rivineae* an, in dem diejenigen Genera der *Phytolaccaceen* vereinigt sind, deren Gynoeceum aus einem einzigen Karpell besteht. Aus der Gattung *Rivina* wurde die Spezies *R. humilis* L. untersucht.

Ein medianer Längsschnitt durch den fertigen Fruchtknoten von *Rivina humilis* ist in der Fig. 9a dargestellt. Man erkennt, daß das Fruchtblatt terminal steht. Die einzige Samenanlage ist kampylotrop und an der Basis des Karpells inseriert. Ihr Funiculus steht in der Verlängerung der Blütenachse. Die Karpellspreite hüllt die Samenanlage von allen Seiten vollkommen ein und läßt nur auf einer Seite unmittelbar über der Basis des Karpells einen schmalen Spalt frei (in der Fig. 9a

auf der rechten Seite). Diese Öffnung, durch die die Karpellhöhlung mit außen in Verbindung steht, befindet sich auf derjenigen Seite, von der die Samenanlage abgewandt ist.

Die große Ähnlichkeit eines solchen Fruchtknotens mit einem einzelnen Karpell von *Phytolacca* fällt sofort auf. Ein Unterschied zeigt sich lediglich darin, daß die Karpelle von *Phytolacca* der Blütenachse seitlich ansitzen, während das Fruchtblatt von *Rivina* terminal steht. Ferner besteht eine Differenz in der Entwicklung des Griffels. Bei *Rivina* ist die Karpellspitze zu einer kopfigen Narbe entwickelt, während ein solches Gebilde bei *Phytolacca* fehlt.

Die Übereinstimmung der Karpellformen von *Rivina* und *Phytolacca* zeigt sich auch im Leitbündelverlauf. Die Karpellspreite von *Rivina* wird von einem Leitbündel durchzogen, das unmittelbar über der Basis des Fruchtblattes nach beiden Seiten einen Strang abgibt. Dieses Leitbündel entspricht genau dem Dorsalmedianus der Karpelle von *Phytolacca*. Wie bei dieser Gattung wird auch die Samenanlage von *Rivina* durch ein direkt aus der Blütenachse kommendes Leitbündel, den Ventralmedianus, versorgt. (Vgl. hierzu die Fig. 9b u. c.) Auch die Lage von Hadrom und Leptom in den erwähnten Leitbündeln entspricht vollkommen den bei *Phytolacca* gefundenen Verhältnissen. Auf die Bedeutung dieser Erscheinung für die Frage der Peltation des Karpells wird weiter unten zurückzukommen sein.

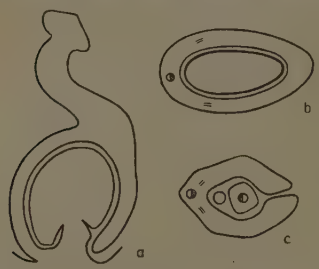


Fig. 9. *Rivina humilis*. a Längsschnitt; b und c Querschnitte durch das Gynoeceum. Erklärungen im Text. (Vergr. a—c 25fach.)

Die Stellung der Karpelle in den Blüten von *Rivina* zu der Blütenstandsachse ist streng fixiert. Längsschnitte durch die traubige Infloreszenz von *Rivina* lassen erkennen, daß die Karpelle stets so liegen, daß ihre Oberseite nach der Blütenstandsachse zu orientiert ist und daß die Unterseite und somit auch die Mikropyle der Samenanlagen auf der abaxialen Seite des Blütenstandes liegt. Verglichen mit der vorhin besprochenen Gattung wäre also bei *Rivina* nur dasjenige Karpell zur Entwicklung gelangt, das in den Blüten von *Phytolacca* in bezug auf die Infloreszenzachse am meisten abaxial steht.

Das Karpell von *Rivina humilis* entsteht als rundlicher Höcker, der in der Blütenanlage zwischen den Staubblattprimordien terminal steht (Fig. 10a). Der Höcker flacht sich auf der einen Seite etwas ab,

und im Laufe der weiteren Entwicklung wird diese Abflachung zu einer kleinen Vertiefung. Das Karpell erscheint in diesem Stadium als ringförmiges Gebilde mit einer kleinen Vertiefung in der Mitte. Die eine Seite dieses Ringes, und zwar ist es stets die abaxiale in bezug auf die Infloreszenzachse, also die Karpellunterseite, ist wesentlich höher als die gegenüberliegende. Ein medianer Längsschnitt durch ein solches Entwicklungsstadium ist in der Fig. 10b dargestellt (in dieser und in den beiden folgenden Abbildungen liegt die Karpellunterseite rechts). Während diese größere, abaxiale Zone (immer in bezug auf die Blütenstandsachse) rasch weiterwächst, vergrößert sich die adaxiale Seite des Ringes kaum. Diese bildet jedoch einen kugeligen Höcker nach dem Innern des Karpellprimordiums hin; das ist die zukünftige Samenanlage (Fig. 10c). Wie diese und die folgende Abbildung, die einen tangentialen Schnitt durch ein junges Karpell darstellt, zeigen, umhüllt die abaxiale Zone, d. i. die Karpellspreite, die Samenanlage von allen Seiten und läßt nur auf der adaxialen Seite einen Spalt offen. Durch die seitlichen Wände der Karpellspreite einerseits und durch einen Wulst, der sich auf der Oberseite der Karpellspreite bildet (in der Fig. 10c mit *W* bezeichnet), andererseits, wird dieser Spalt zu einer kleinen Öffnung über der Basis des Karpells verengert (Fig. 10e, in dieser Abbildung befindet sich die Karpellunterseite links).

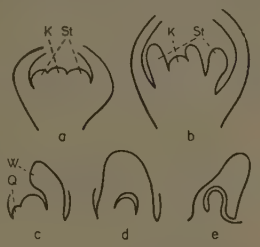


Fig. 10. *Rivina humilis*. a und b mediane Längsschnitte durch Blütenknospen; c und e mediane Längsschnitte und d tangentialer Längsschnitt durch junge Karpelle. Bezeichnungen: *St* Staubblatt, *K* Karpell. Weitere Erklärungen im Text. (Vergr. a—d 50-, e 25fach.)

III. Petiveria.

Das Gynoeceum von *Petiveria* (untersucht wurde die Spezies *P. alliacea* L.) ist demjenigen von *Rivina* sehr ähnlich (Fig. 11a). In einer Hinsicht unterscheiden sich die beiden Gattungen jedoch stark: Bei *Petiveria* fehlt ein Griffel. An Stelle desselben findet man am Scheitel des Fruchtblattes ein mehrlappiges Gebilde (der mittlere Zipfel ist im medianen Längsschnitt, der in der Fig. 11a dargestellt ist, getroffen). Als Narbe funktioniert eine Erhöhung an der Oberseite des Karpells, die mit langen, mehrzelligen Papillen besetzt ist. Das ganze Fruchtblatt von *Petiveria* ist stark behaart. (Vgl. hierzu die Fig. 34D und E in Walter 1909.) Der Spalt, den die Karpellspreite auf der einen Seite über der Basis des Gynoeceums frei läßt, ist bei *Petiveria alliacea* sehr

eng und durch miteinander verzahnte Papillen ausgefüllt. Ein Querschnitt durch den untersten Teil des Karpells (Fig. 11 b) zeigt, daß bei *Petiveria* das dorsale Leitbündel nach beiden Seiten zwei Stränge abgibt; im übrigen ergibt sich genau das gleiche Bild wie bei *Rivina*. Die Fig. c und d in Fig. 11, die mediane Längsschnitte durch junge Karpelle von *Petiveria* darstellen, lassen erkennen, daß auch die Entwicklungsgeschichte der Fruchtblätter gleich wie bei der vorher besprochenen Gattung verläuft.

In der Einleitung ist bereits darauf hingewiesen worden, daß E. R. Saunders (1930) auf Grund von Studien über den Leitbündelverlauf festzustellen glaubte, daß das Gynoeceum der Rivineae aus zwei Karpellen bestehe, von denen das eine die Karpellspreite, das andere die Samenanlage bilde. Für *Phytolacca* hingegen stellte E. R. Saunders fest (1930, S. 93), daß alle Karpelle "stand in one whorl and are all of the valve type as supposed hitherto". Es erübrigt sich, auf die Feststellungen und Schlüsse dieser Autorin näher einzutreten, da diese bereits von Joshi und Rao (1933) widerlegt worden sind. Diese Forscher stellten für *Rivina* fest, daß das Karpell von drei Leitbündeln innerviert wird, von denen eines die Karpellspreite versorgt, während die beiden anderen sich vereinigend in die Samenanlage eintreten. Sie interpretieren dabei folgendermaßen (1933, S. 362): "The bundle supplying the ovary wall has to be interpreted as the midrib bundle of the carpel or the so-called dorsal bundle, and the two bundles supplying the ovule are to be regarded as the marginal bundles of a three-traced carpel." Joshi und Rao schließen hieraus, daß das Gynoeceum von *Rivina* aus einem einzigen Karpell besteht. Diese Feststellungen stimmen mit den hier gemachten völlig überein. Zudem konnte hier gezeigt werden, daß auch die Fruchtblätter von *Phytolacca* und *Petiveria* den gleichen Leitbündelverlauf zeigen. (Vgl. die Fig. 8, 9c und 11b.)

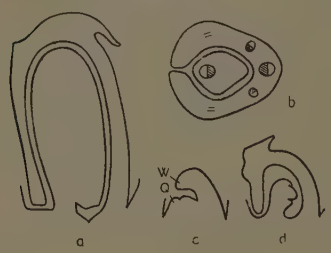


Fig. 11. *Petiveria alliacea*. a Längsschnitt; b Querschnitt durch den Fruchtknoten; c und d mediane Längsschnitte durch junge Karpelle. Erklärungen im Text. (Vergr. a und b 25-, c 50-, d 25fach.)

Bei der Besprechung des Gynoeceums von *Rivina* ist die große Ähnlichkeit desselben mit einem einzelnen Karpell von *Phytolacca* erwähnt worden. Angesichts dieser Tatsache und in Anbetracht der oben dargestellten Übereinstimmung im Leitbündelverlauf scheint die Auffassung von E. R. Saunders, daß dem Gynoeceum der *Rivineae* ein

ganz anderer Bauplan zugrunde liege, mindestens merkwürdig. Indessen erlaubt die vergleichend-morphologische Betrachtung noch weitere Schlüsse. Für *Phytolacca* ist die Vermutung geäußert worden, daß das Karpell ein peltates Organ darstellt, dessen Querzone jedoch gänzlich mit der Blütenachse verwachsen ist. Die Ansicht konnte gestützt werden durch Feststellungen über den Leitbündelverlauf. Das die Samenanlage versorgende Bündel zeigt umgekehrte Lagerung von Hadrom und Leptom. Dieser Strang entspricht also dem Ventralmedianus eines unifazialen Blattstieles bzw. eines peltaten Blattes. Die gleichen Verhältnisse konnten auch bei *Rivina* und *Petiveria* nachgewiesen werden. Auch bei diesen Gattungen zeigt das in die Samenanlage eintretende Leitbündel Holz- und Siebteil in umgekehrter Lagerung (Fig. 9c und 11b). Bei *Phytolacca* konnte die Schildform des Karpells entwicklungsgeschichtlich nicht nachgewiesen werden, hingegen ist dies bei *Rivina* und *Petiveria* möglich. Es ist gezeigt worden, daß das Karpell von *Rivina* auf einem frühen Entwicklungsstadium einen ringförmigen Wulst darstellt, dessen abaxiale Seite (bezogen auf die Infloreszenzachse) sich zur Karpellspreite entwickelt, während die gegenüberliegende Zone sich kaum vergrößert, jedoch die Samenanlage bildet. Dabei wird nicht die ganze Zone zur Samenanlage, sondern es bleibt ein kleiner Rand, der aber nicht weiterwächst und am fertigen Fruchtblatt nicht mehr erkennbar ist (in den Fig. 10c und 11c mit *Q* bezeichnet). In diesem Rand hat man zweifellos die Querzone des Karpells zu erblicken.

Diese Betrachtungen führen zu der Feststellung, daß die Karpelle der *Phytolaccaceen* peltate Organe sind, deren Querzonen jedoch stark gehemmt sind. Bei *Rivina* und *Petiveria* ist die Querzone auf frühen Entwicklungsstadien erkennbar, jedoch nicht mehr am ausgewachsenen Karpell. Bei *Phytolacca* sind die Querzonen der Fruchtblätter während der ganzen Entwicklung mit der Blütenachse verwachsen. Ferner wurde festgestellt, daß bei allen untersuchten *Phytolaccaceen* die Karpellhöhlung nur durch einen schmalen Spalt mit außen in Verbindung steht. Dieser Verschluß kommt, wie die Entwicklungsgeschichte der Fruchtblätter zeigt, durch die Seitenwände der Karpellspreite und durch einen Wulst zustande, der sich auf der Oberseite des Karpells bildet (in den Fig. 1d, 10c und 11c mit *W* bezeichnet).

Diese Feststellung, daß das Gynoeceum der Rivineae und ein einzelnes Karpell von *Phytolacca* auch in der Entwicklungsgeschichte weitgehend übereinstimmen, führt, wie die Betrachtung über den Bau und die Nervatur, zu dem Schluß, daß der Fruchtknoten von *Rivina* und *Petiveria* aus einem einzigen Fruchtblatt besteht.

Schlußbetrachtung.

Zum Vergleich mit der Karpellform der *Phytolaccaceae* sei auf die Fruchtblattgestalten der *Ranunculaceae* hingewiesen, die durch Troll (1932a) eine eingehende Untersuchung erfahren haben[1]). Nach Troll zeichnen sich die Arten von *Thalictrum* durch die vollständigsten Karpelle aus. Die Fruchtblätter von *Thalictrum aquilegiaefolium* z. B. sind langgestielt und besitzen eine schlauchförmige Spreite. Die einzige Samenanlage ist an der Querzone inseriert. Einen kürzeren Stiel zeigen die Fruchtblätter von *Thalictrum flavum* und vieler *Anemone*-Arten, während die Karpelle der Arten aus der Gattung *Ranunculus* insofern vereinfacht sind, als bei ihnen die Querzone nur sehr wenig entwickelt ist. „In gesteigertem Maße tritt uns die Hemmung der Querzone des Karpells und seines Stieles an *Ranunculus acer* entgegen. Zwar ist ein flacher Querwulst vorhanden; dieser wächst aber nicht zur adaxialen Schlauchwand aus, sondern bringt unmittelbar die Samenanlage hervor. Der gegenüberliegende Spreitenabschnitt dagegen wird kräftig entwickelt und besorgt zum Teil auch den Verschluß der Karpellhöhlung auf der adaxialen Seite. Seine starke kapuzenförmige Krümmung ist natürlich die Folge davon, daß der adaxiale Wandabschnitt des Karpells unausgebildet bleibt" (Troll 1932a, S. 302 und Fig. 95). Denkt man sich an einem solchen Karpell von *Ranunculus acer* den Stiel gänzlich reduziert, so erhält man eine Fruchtblattform, wie sie einem bei *Rivina* und, abgesehen vom Fehlen des Griffels, auch bei *Petiveria* entgegentritt. Genau wie *Ranunculus acer* zeigen auch die beiden untersuchten Arten der Rivineae eine sehr schwache Entwicklung der Querzone des Karpells und eine kapuzenförmige Ausbildung der Fruchtblattspreite. Die Feststellungen über den Leitbündelverlauf und die vergleichenden Betrachtungen mit den Fruchtblättern der *Rivineae* führen zum Schluß, daß auch die Karpelle von *Phytolacca* peltaten Bau aufweisen. Die Erscheinung, daß die Samenanlagen von *Phytolacca* scheinbar aus der Blütenachse hervorgehen, muß dabei so erklärt werden, daß die Samenanlagen von den Querzonen gebildet werden, die während der ganzen Fruchtblattentwicklung mit der Achse verwachsen sind.

1) Vgl. hierzu auch die zusammenfassende Darstellung der Karpellformen von Troll in „Fortschritte der Botanik" 1935.

Zusammenfassung.

Vergleichend-morphologische und entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen am Gynoeceum der *Phytolaccaceen* ergaben:

1. Der Fruchtknoten aller *Phytolacca*-Arten ist als apocarp zu bezeichnen. Die bei den Arten aus dem Subgenus Euphytolacca auftretende seitliche Verwachsung der Karpelle stellt lediglich eine Modifikation der Apocarpie dar.

2. Das Gynoeceum von *Rivina* und *Petiveria* besteht aus einem einzigen Karpell.

3. Die Fruchtblätter der *Phytolaccaceen* sind peltate Organe mit nur schwach entwickelter Querzone. Die Karpellspreite umgibt die Samenanlage kapuzenförmig. Diese Gestalt läßt sich von den Fruchtblattformen der *Ranunculaceen* ableiten.

Literaturverzeichnis.

Bouygues, M. H., Structure, origine et développement de certaines formes vasculaires anormales du pétiole des Dicotylédones. Act. Soc. Linn. Bordeaux **57,** 41 (1902). — Eames, A. J., The vascular anatomy of the flower with refutation of the theory of carpel polymorphism. Amer. Journ. of Botany **18,** 147 (1931). — Eber, E. Karpellbau und Plazentationsverhältnisse in der Reihe der Helobiae. Flora, N. F. **27,** 273 (1934). — Eichler, A. W., Blütendiagramme, II. Teil, Leipzig 1878. — Goebel, K., Organographie der Pflanzen, Jena 1933. — Joshi, A. C. and Rao, V. S., Floral anatomy of *Rivina humilis* and the theory of carpel polymorphism. New Phytologist **32,** 359 (1933). — Pax, F., Caryophyllaceae, in Engler und Prantl, Die natürlichen Pflanzenfamilien, III. Teil, 1. Abt. b, Leipzig 1889. — Payer, J. B., Traité d'organogénie comparée de la fleur. Paris 1857. — Saunders, E. R., Ilustrations of carpel-polymorphism VI. New Phytologist **29,** 81, 1930. — Troll, W., Zur Auffassung des parakarpen Gynaeceums und des coenokarpen Gynaeceums überhaupt. Planta **6,** 255 (1928). — Ders., Morphologie der schildförmigen Blätter. Planta **17,** 153 (1932a). — Ders., Beiträge zur Morphologie des Gynaeceums II, Über das Gynaeceum von *Limnocharis* Humb. et Bonpl. Planta **17,** 453 (1932b). — Ders., Beiträge zur Morphologie des Gynaeceums III., Über das Gynaeceum von *Nigella* und einiger anderer Helleboreen. Planta **21,** 266 (1933). — Ders., Morphologie einschl. Anatomie, in „Fortschritte der Botanik", herausgeg. von Wettstein **4,** 11, (1935). — Walter, H., Die Diagramme der Phytolaccaceen. Englers Bot. Jahrb. **37,** Beibl. 85 (1906). — Ders., Phytolaccaceae, in Engler, Das Pflanzenreich. Leipzig 1909. — Wettstein, R., Handbuch der systematischen Botanik, II. Bd., 4. Aufl., herausgeg. von F. Wettstein, Leipzig und Wien 1935.

Über die Bedingungen der Stickstoffaufnahme, vor allem der Nitrataufnahme, bei Aspergillus niger[1]).

Von **Dorothea Itzerott.**

Mit 6 Abbildungen im Text.

(Aus dem Botanischen Institut der Universität Jena.)

I. Einleitung.

Durch ältere und neuere Arbeiten an höheren und niederen Pflanzen, speziell an Pilzen, hat sich die Wasserstoffionenkonzentration als ein wichtiger Faktor für die stärkere oder schwächere Aufnahme von Ammon- und Nitratstickstoff erwiesen. So ist, wie die Ergebnisse zahlreicher Versuche an höheren Pflanzen zeigen (Mevius 1928, Mevius u. Engel 1929, Pirschle 1929, Tiedjens u. Robbins 1931, Tiedjens 1934, Clark u. Shive 1934 u. a.), die Eignung der Ammonsalze als Stickstoffquelle abhängig von der Reaktion der Nährlösung. Nur in bestimmtem pH-Bereich sind Ammonsalze für die Pflanze eine günstige Stickstoffnahrung (vgl. Prianischnikow 1926, Loo 1928/29, Tokudo 1928, Yamaguchi 1935). Im allgemeinen gilt, daß Nitratstickstoff vornehmlich im Bereich stark saurer, Ammonstickstoff meist im Bereich neutraler bis alkalischer Reaktion assimiliert wird (s. Hoagland u. Davis 1923, Theron 1924, Bach 1924, Tamiya 1927, Rippel 1931, Bach u. Desbordes 1933). Die Rolle der Wasserstoffionen wurde vor allem durch folgende Überlegung zu erklären versucht. Maßgebend für die hydrolytische Spaltung und Dissoziation der Ammonsalze ist die Wasserstoffionenkonzentration. Sind sehr viele OH-Ionen in der Lösung, ist demnach die Reaktion der Lösung alkalisch, so ist das durch Hydrolyse gebildete NH_4OH schwach dissoziiert, d. h. neben NH_4- und OH-Ionen sind reichlich NH_4OH bzw. NH_3-Moleküle in der Lösung vorhanden. Da nun aber die Plasmahaut für NH_4OH- bzw. NH_3-Moleküle sehr leicht permeabel ist, so wird Ammoniak umso mehr eindringen, je höher der pH-Wert und je höher also auch die NH_3-Tension ist. Für die Voraussetzung dieser Erklärung, also für die Annahme, daß Ammoniakstickstoff hauptsächlich als Molekül in die Zelle eintritt und nicht in Form von

1) Erschienen als Dissertation der Universität Jena.

Ionen, sprechen die Versuchsergebnisse zahlreicher Autoren (Osterhout 1929, 1931, Sakamura 1930, Collander 1931, Ribbert 1932, Sakamura u. Kanamori 1935). So läßt sich vor allem auch die Giftwirkung der Ammonsalze erklären (Ribbert 1931, Yamaguchi 1934): Kann Ammoniak infolge der sehr geringen H-Ionenkonzentration in großem Ausmaß in die Zelle permeieren, häuft sich also Ammoniak in der Zelle an, so muß die Pflanze geschädigt werden, da Ammoniak ein starkes Zellgift ist. Zur Erklärung der bevorzugten Nitrataufnahme im Gebiet stark saurer Reaktion sind von Warburg und Negelein (1920), Tamiya (1927) und Sakamura (1930) ähnliche Überlegungen herangezogen worden. Der Dissoziationsgrad bzw. die Menge der undissoziierten HNO_3-Moleküle ist für das Eindringen von NO_3 in die Zelle ausschlaggebend. Jedoch sind diese Erklärungen nicht immer völlig ausreichend, und nicht jedes Mal läßt sich die ungleiche Resorption von Ammon- und Nitratstickstoff durch den Dissoziationsgrad verstehen. So ist nicht zu begreifen, daß Ammonstickstoff, wenn auch in geringer Menge, im Gebiet sehr saurer Reaktion von den Pflanzen überhaupt noch assimiliert wird. Denn schon bei mäßig hoher H-Ionenkonzentration (bei pH $<6{,}0$) ist die Dissoziation fast vollständig bzw. die Menge der undissoziierten Moleküle praktisch gleich Null. Daß nicht der Dissoziationsgrad für die Intensität der Assimilation von Ammoniak und Nitrat allein wichtig ist, ergibt sich auch daraus, daß sich die verschiedenen Pflanzen hinsichtlich der pH-Abhängigkeit der Aufnahme von Ammon- und Nitratstickstoff quantitativ verschieden verhalten. Rippel (1931) findet für *Aspergillus niger* Nitrataufnahme erst bei pH $<3{,}0$, für *Aspergillus oryzae* schon bei pH 4,25. Einige der untersuchten höheren Pflanzen sind imstande, Nitratstickstoff bei noch geringerer Wasserstoffionenkonzentration zu assimilieren. Baumwollpflanzen nehmen Nitrat optimal bei pH 5,0 auf (Naftel 1931). Für Mais, Tabak, Kürbis gilt, daß die Pflanzen Nitratstickstoff noch bei pH 7,5 sehr wohl assimilieren können (Pirschle 1929). Keimlinge von Erbsen und Lupinen können den Nitratstickstoff noch gut im Bereich neutraler Reaktion verwerten (Prianischnikow 1933/34). Hinzu kommt noch, daß ähnlich große Verschiedenheiten auch schon bei ein und derselben Art beobachtet werden können, und zwar namentlich beim Vergleich verschieden alter Individuen. Es scheint also, daß abgesehen von der Rolle der H-Ionenkonzentration für den Dissoziationsgrad und damit für die Geschwindigkeit der Permeation von Ammon- und Nitratstickstoff auch andere in der Pflanze selbst liegende Faktoren für die pH-Abhängigkeit der Aufnahme von Ammon- und Nitratstickstoff verantwortlich zu machen

sind. Diese Faktoren sollten vor allem hinsichtlich der Nitrataufnahme durch Studien an *Aspergillus niger* ermittelt werden. Wie sehr diese Frage einer Untersuchung bedarf, geht auch schon daraus hervor, daß wir bis jetzt nicht einmal wissen, ob sich die pH-Abhängigkeit der Stickstoffassimilation überhaupt aus einer pH-Abhängigkeit der Stickstoffaufnahme, oder vielmehr, wie andere Autoren namentlich für die Nitratassimilation glauben, aus einer pH-Abhängigkeit der Stickstoffverarbeitung ergibt.

II. Methoden.

1. Nährlösung und Kulturmethode.

Als Kulturmedien dienten, wenn nicht anders angegeben, folgende (auch von Rippel, 1931, benutzte) Lösungen:

a) Mit schwach saurer Ausgangs-Reaktion (pH um 6,4).

Dextrose (Puriss. anhydr. pro infus.)	6,3 g
KH_2PO_4 (Puriss.)	0,136 g
K_2HPO_4 (Puriss.)	0,174 g
$MgSO_4$ (pro anal.)	0,123 g
Destilliertes Wasser	100 ccm

b) Mit stärker saurer Ausgangs-Reaktion (pH um 4,6).

Dextrose (Puriss. anhydr. pro infus.)	6,3 g
KH_2PO_4 (Puriss.)	0,272 g
$MgSO_4 \cdot 7\,H_2O$ (pro anal.)	0,123 g
Destilliertes Wasser	100 ccm

Dazu kamen als N-Quelle je nach Versuch:

NH_4NO_3 (pro anal.)	0,400 g
KNO_3 (pro anal.)	0,505 g
$Ca(NO_3)_2$ (Puriss.)	0,8024 g

Die Chemikalien stammten von Merck oder Kahlbaum. Als Kulturgefäße wurden, wenn nicht anders angegeben, Erlenmeyerkolben von 50 ccm Inhalt benutzt, die mit 20 ccm Nährlösung beschickt wurden. Die sterilisierte Nährlösung wurde mit einer dichten Konidiensuspension geimpft, und der Pilz im Thermostaten bei 34° kultiviert.

2. Untersuchung der Nährlösung.

Die Veränderung der Nährlösung wurde kolorimetrisch mit Hilfe des Zeiss-Pulfrich-Stufenphotometers untersucht. Dabei wurde für die Nitratbestimmung die Bruzinreaktion angewandt, zur Ammoniakbestimmung die Färbung mit Nesslers Reagens. Photometriert wurde unter Vorschalten des Filters S 43 (violett). Bezüglich der methodischen Einzelheiten vgl. Urbach (1931) und Bünning (1934) Die Fehlergrenze für die Ammoniakbestimmung liegt bei 2—3%. Kleins Einwand (1925) gegen die Ammoniakbestimmung mit Nesslers Reagens, daß die von der Pflanze ausgeschiedenen Lipoide mit dem Reagens eine ähnliche Reaktion ergeben wie Ammoniak, ist für kurze, 4—6 Tage dauernde Versuche nicht bedenklich, da nach dieser Zeit solche Ausscheidungen noch nicht auftraten. Für die Nitratbestimmung muß mit einem Fehler von 5% gerechnet werden. Mit dieser Genauigkeit konnte eine bekannte, der zu untersuchenden Lösung extra zugesetzte Menge Nitrat bei der Analyse als

Differenz gegenüber den ohne diesen Zusatz ermittelten Werten wiedergefunden werden. Die angegebenen Fehler der Ammoniak- wie Nitratbestimmung beziehen sich auf eine Einzelbestimmung. Bei einer größeren Anzahl von Versuchen und Mittelwertsbildung verringert sich der Fehler des Mittelwertes. Die Anwesenheit von Zucker und Salzen der Nährlösung war innerhalb der angegebenen Meßgenauigkeit nicht störend, selbst dann nicht, wenn zu einer Kontrolle erheblich mehr Zucker zugesetzt wurde als bei den Versuchen. Um Schwankungen in den Analysenergebnissen möglichst auszugleichen, wurden zu einer Untersuchung stets vier Kölbchen herangezogen, die mitgeteilten Analysenresultate stellen also Mittelwerte aus vier Einzelergebnissen dar. Der mittlere Fehler des Mittelwertes bei der Ammoniakbestimmung beträgt dann etwa 1—2%, bei der Nitratbestimmung 2—3%. Schwankungen der Resultate um ± 25%, wie sie Alten und Weiland (1933) bei Vergleichsmessungen im zweistufigen Kolorimeter mit der Bruzinmethode fanden, die danach nur annähernd richtige Werte liefert, konnten von mir nicht bestätigt werden. Zur Bestimmung der H-Ionenkonzentration wurde ebenfalls das Pulfrich-Photometer benutzt (Methode nach Janke und Sekera 1932). Als Indikatoren wurden α- und γ-Dinitrophenole und m- und p-Nitrophenole benutzt. Gemessen wurde unter Vorschalten des Filters S 43 (violett). Kontrollmessungen mit der Chinhydronelektrode unter Berücksichtigung der Temperatur ergaben Übereinstimmung bis auf 0,01—0,02-pH-Einheiten. Für orientierende Versuche wurde das Folien-Kolorimeter nach Wulff gebraucht, das stets gute Resultate (mit einem Fehler von etwa 0,1-pH-Einheiten) lieferte. Die Erntegewichte wurden wie gewöhnlich ermittelt. Die Trockenschranktemperatur betrug 100—110°.

III. Die Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration für die Aufnahme des Ammon- und Nitratstickstoffs in Ammonnitratkulturen.

Aspergillus niger ist, wie ältere und neuere Literaturangaben immer wieder zeigten, ein ausgesprochener Ammoniakpilz. Aus Kulturlösungen, die Ammonnitrat als Stickstoffquelle enthalten, nimmt der Pilz in der Regel nur Ammonstickstoff auf. Nitratstickstoff wird nicht oder nur wenig angegriffen, bevor der Ammonstickstoff verbraucht ist, obwohl für den Pilz aus dieser einseitigen Ernährungsweise nachteilige Folgen entstehen, wie starke Erhöhung der Azidität der Kulturlösungen und schlechte Wachstumsbedingungen (Rippel 1931, Boas 1919). Um einen Einblick in die bestimmenden Faktoren der Aufnahme von Ammoniak- und Nitratstickstoff zu gewinnen, wurde geprüft, ob *Aspergillus niger* sich unter allen Umständen in der geschilderten Weise verhält, oder ob sich durch gewisse Bedingungen eine Veränderung in der Aufnahme von Ammoniak- und Nitratstickstoff erzielen läßt. Da, wie in der Einleitung erwähnt wurde, der Wasserstoffionenkonzentration bei der Stoffaufnahme eine wichtige Rolle zukommt, wurde versucht, durch Kulturen mit verschiedenem Ausgangs-pH-Wert die Abhängigkeit der Nitrataufnahme von der Wasserstoffionenkonzentration genauer zu ermitteln.

In allen Kulturen erhielt der Pilz die gleiche Menge Stickstoff (0,14%) als Ammonnitrat. Besonders hohe Azidität der Kulturlösung wurde durch Zusatz von Phosphorsäure oder Zitronensäure erreicht. Da der Pilz äußerst säureresistent ist, macht sich der hohe Säuregrad (pH 3,2 bzw. 2,8) nicht schädlich bemerkbar. Das vegetative und fertile Wachstum war bei pH 3,2 und 2,8 fast ebensogut, oftmals sogar besser, als bei einem Ausgangs-pH von 4,4 oder 6,4. So können wir die Nitrataufnahme innerhalb des pH-Bereichs von 6,4 bis 2,8 vergleichend betrachten, ohne damit rechnen zu müssen, daß der Pilz in einigen Versuchen durch die starke Azidität der Kulturflüssigkeit geschädigt war. Die kurvenmäßige Wiedergabe der Resultate in Fig. 1 und 2 zeigt uns die Stickstoffaufnahme und den pH-Verlauf in Kulturen mit verschiedenem Ausgangs-pH.

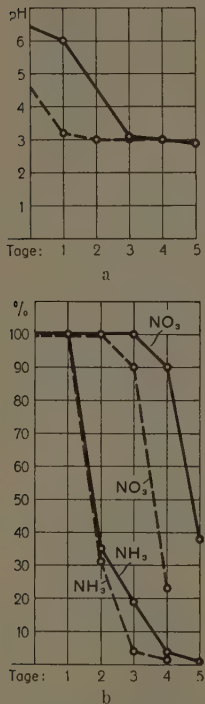
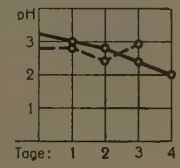


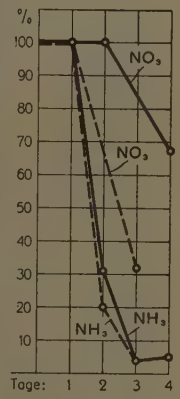
Fig. 1. Kultur in Ammonnitratnährlösung mit einem Anfangs-pH 6,4 (———) bzw. 4,6 (— — —). *a* pH-Verlauf; *b* Aufnahme von Nitrat und Ammoniak (auf der Ordinate ist die noch vorhandene Menge von Nitrat bzw. Ammoniak in % der gegebenen verzeichnet).

Aus den Abbildungen ist folgendes zu ersehen. Ist Ammonstickstoff noch reichlich vorhanden, so wird bei pH-Werten über 3,0 kein Nitratstickstoff vom Pilz angegriffen. Erst wenn der pH-Wert unter 3,0 sinkt, beginnt die Nitrataufnahme, ohne daß die Aufnahme von Ammonstickstoff völlig unterbunden wird. Der Pilz assimiliert also im Gebiet stark saurer Reaktion auch Ammoniak. In Kulturen mit einem Anfangs-pH von 4,4 oder 6,4 mag es fast so scheinen, als ob wir es mit einem Umschlagspunkt von alleiniger Assimilation des Ammoniaks zu alleiniger Assimilation des Nitrats zu tun hätten, etwa derart, daß bei $pH > 3{,}0$ vorwiegend oder nur Ammoniakstickstoff, bei $pH < 3{,}0$ nur Nitratstickstoff assimiliert wird. Jedoch entsteht dieses Bild nur, weil bei jenen Kulturen der Ammoniakstickstoff fast völlig verbraucht ist, wenn die pH-Bedingungen erreicht sind, die die Nitrataufnahme ermöglichen. In Kulturen mit einem Ausgangs-pH von 3,2 oder 2,8 greift der Pilz bei $pH < 3{,}0$ deutlich den noch reichlich zur Verfügung stehenden Ammonstickstoff neben Nitratstickstoff an, ja Ammonstickstoff wird sogar in größerer Menge als Nitratstickstoff assimiliert. Ammonstickstoff wird demnach auch bei sehr saurer Reak-

tion der Nährlösung stets vom Pilz aufgenommen, während der Pilz Nitratstickstoff erst dann in seinen Stoffwechsel einbezieht, wenn sich die Azidität der Kulturlösung stark erhöht hat. Bei pH>3,0 wird kein Nitratstickstoff aufgenommen. Offensichtlich besteht vor allem für die Nitrataufnahme eine starke pH-Abhängigkeit. Der Beginn der Nitratassimilation bedeutet nicht, daß der Pilz nunmehr den Ammoniakstickstoff ganz aufgebraucht hat und als Ersatz die andere noch vorhandene Stickstoffquelle angreift, sondern er beruht lediglich darauf, daß die Reaktion der Nährlösung stark sauer geworden ist. Nun wäre es aber denkbar, daß das Alter des Myzels eine gewisse Bedeutung für die Nitrataufnahme hätte, nämlich insofern, als vom Pilz vielleicht gewisse Stoffe gebildet werden, die die Nitratassimilation fördern. So fand Sakamura (1930), daß die Resorption von Ammon- und Nitratstickstoff durch Substanzen, die aus dem Myzel diffundieren, beeinflußt werden kann, und zwar war stärkere Nitratassimilation bei der Gegenwart dieser Stoffe zu verzeichnen. Auch ist bei höheren Pflanzen das Alter für bevorzugte Ammoniak- oder Nitrataufnahme wichtig. Neuere Versuche ergaben, daß junge Pflanzen (Reis, Hafer, Tomate) vorwiegend Ammoniakstickstoff, ältere Pflanzen dagegen Nitratstickstoff aufnehmen (Clark u. Shive 1934, Stahl u. Shive 1933, Dastur u. Malkani 1933). Um zu prüfen, ob ein Einfluß des Alters, sei es infolge innerer Veränderung der Zellen oder infolge der Ausscheidung von Stoffen in die Nährlösung, besteht, wurden Versuche mit „fertigen Pilzdecken" ausgeführt, eine Methode, die schon oft für die Klärung stoffwechselphysiologischer Fragen herangezogen worden ist (Purjewitsch 1900, ferner Kostytschew u. Tswetkowa 1920, Tamiya 1928/29). So war es, wie wir sehen werden, möglich, verschieden alte Kulturen zu untersuchen, ohne mit einer Beeinflussung durch die verschiedene Zusammensetzung der ungleich alten Kulturlösungen rechnen zu müssen. Es läßt sich also an den fertigen Decken feststellen, ob das Alter des Pilzes oder das Alter der Lösung durch vom Pilz ausgeschiedene Stoffe schon die Nitrataufnahme begünstigt, sowie auch, ob die Menge des noch zur Verfügung stehenden Ammoniaks die Nitrataufnahme beeinflußt, oder ob allein die Wasserstoffionenkonzentration wichtig ist. Bei dieser Art der Kultur



a



b

Fig. 2. Wie Fig. 1, jedoch Anfangs-pH 3,2 (———) bzw. 2,8(– – –).

werden Erlenmeyerkolben benutzt, die am Boden durchbohrt sind. Die Kolben werden so aufgehängt, daß die normale Öffnung unten liegt. Diese Öffnung ist mit einem Gummistopfen verschlossen, durch dessen Bohrungen 3 Glasröhren gehen. Die obere Öffnung wird durch einen Wattestopfen abgedichtet. Der Kolben wurde mit der Ammonnitratlösung beschickt und geimpft. Nach spätestens 3 Tagen hatte sich eine zusammenhängende Pilzdecke gebildet. Dann wurde die alte Nährlösung entfernt und dafür destilliertes Wasser in den Kolben gefüllt. Hierauf blieb die Pilzdecke während 24 Stunden, damit die letzten Spuren der Nährlösung in das Wasser diffundieren konnten. Jetzt wurde das Kulturgefäß, in dem die fertige Pilzdecke also ununterbrochen belassen worden war, mit neuer steriler Nährlösung beschickt (vgl. zur Methodik auch Tamiya 1928/29). Tabelle 1 zeigt das Ergebnis dieser Versuche.

Tabelle 1.
Stickstoffverbrauch in Kulturen mit fertigen Decken.

Ausgangs-pH-Wert	Kulturdauer Std.	pH bei Versuchsende	NH_3-Verbrauch in % des Gegebenen	NO_3-Verbrauch in % des Gegebenen
4,8	24	3,8	25	0
4,8	48	2,8	90	75

Die Analyse der zur fertigen Pilzdecke neu zugesetzten Kulturlösung, die während 24 Stunden und 48 Stunden der Pilzdecke als Substrat gedient hatte, zeigte, daß nach 24 Stunden wohl Ammonstickstoff, aber kein Nitratstickstoff resorbiert war. Erst nach 48 Stunden, als der pH-Wert bis auf 2,8 gesunken war, war sowohl starke Ammon- wie Nitratstickstoffabnahme zu verzeichnen. Damit ist gezeigt, daß die an gewöhnlichen älteren Kulturen beobachtete Nitrataufnahme nur durch Erhöhung der H-Ionenkonzentration, nicht durch das Alter der Kulturlösung bedingt ist. Ferner kann auch das Alter des Pilzes selber nicht entscheidend sein, da auch 3 und 4 Tage alte fertige Decken nicht sofort Nitrat zu assimilieren beginnen, wenn ihnen eine Nährlösung mit zu hohem pH-Wert geboten wird. Dieses Resultat, daß das Alter des Pilzes und der Nährlösung sowie auch der Gehalt an Ammoniakstickstoff keinen großen Einfluß auf die Nitratassimilation haben, wurde noch durch weitere Versuche bestätigt, die vor allem angestellt wurden, um eine genauere Einsicht in die pH-Abhängigkeit der Nitrataufnahme zu gewinnen. Nach Angaben von Tamiya (1927) ist die Wasserstoffionenkonzentration in den einzelnen Schichten der Kulturlösung nicht gleich, da die Einflüsse, die vom Myzel ausgehen, nicht alle Schichten

gleich schnell erfassen. So kann z. B. das Myzel ziemlich schnell Säure in die Lösung ausscheiden, während die Diffusionsgeschwindigkeit evtl. nicht ausreichend ist, um eine gleichmäßige Wasserstoffionenkonzentration in der Lösung zu ermöglichen. Daraus folgt, daß die H-Ionenkonzentration direkt am Myzel anders sein muß als die H-Ionenkonzentration aller durch Umschütteln vermischten Schichten. Für eine 4 Tage alte Kultur von *Aspergillus oryzae* wird von Tamiya angegeben, daß der pH-Wert der oberen Schicht nur wenig von dem pH-Wert der tiefsten Lage verschieden war, daß sich jedoch in den dazwischenliegenden Schichten größere Unterschiede zeigten. Da nun der pH-Wert, bei dem die Nitratassimilation beginnt, bestimmt werden sollte, wurde versucht, durch eine andere Kulturmethode diese Wasserstoffionenkonzentration genauer zu bestimmen. Tamiyas Versuche, bei denen die Kulturen im Thermostaten von Zeit zu Zeit durchgeschüttelt wurden, waren wenig erfolgreich, da diese geschüttelten Kulturen schlechtes vegetatives und fertiles Wachstum zeigten und sich so nicht als Vergleichsmaterial verwerten ließen. Daher wurde die Schüttelkultur, wie sie Kluyver und Perquin (1933) vorschlugen, angewandt. Ich bediente mich dazu eines Schüttelapparates der Firma Lautenschläger, der wegen seiner Größe nicht in den Thermostaten gestellt werden konnte und darum in eine elektrisch geheizte Kiste gebracht wurde, in der die Temperatur, die durchschnittlich ebenso hoch war wie bei den anderen Versuchen, um 1—2° schwankte. Bei dieser Art der Kultur sind die Kölbchen ständig in Bewegung. Es wird also sowohl für gute Durchmischung der Nährlösung wie für reichliche Sauerstoffversorgung des Myzels gesorgt. Die Myzelien wachsen nicht in zusammenhängenden Decken, sondern in kleinen, weichen gallertartigen Klümpchen von etwa 3—5 mm Größe.

Abgesehen von dem oben genannten Grund für diese Versuche war es auch sonst von Interesse, ob die veränderten Kulturbedingungen, die auf die äußere Gestalt des Myzels Einfluß haben, auch den Stoffwechsel maßgeblich verändern. Zur Kontrolle wurde stets eine Parallelkultur im Thermostaten in üblicher Weise herangezogen. Das Ergebnis dieser Versuche wird durch Tabelle 2 dargestellt.

Auffallend sind die Unterschiede in den Erntegewichten. Diese waren bei den Schüttelkulturen sehr gering. Wichtig ist für uns aber, daß sich trotz der starken Beeinflussung der Geschwindigkeit und Art des Myzelwachstums hinsichtlich der Aufnahme von Ammon- und Nitratstickstoff in den Schüttelkulturen keine wesentlichen Abweichungen gegenüber gewöhnlichen Kulturen ergaben. Wohl beweisen die Analysenergebnisse, daß sich in den Schüttelkulturen das Verhältnis NH_3-Auf-

Tabelle 2.
Assimilation von Ammon- und Nitratstickstoff in Schüttelkulturen und Kontrollkulturen.

Anfangs-pH	Kulturdauer	pH bei Versuchsende		NO_3-Verbrauch in % d. Gegeb.		NH_3-Verbrauch in % d. Gegeb.		Trockengewicht	
		Kontr.	Schüttk.	Kontr.	Schüttk.	Kontr.	Schüttk.	Kontr.	Schüttelk.
4,4	1 Tag	3,3	3,6	0	0	0	0	0,03 g	—*)
4,4	2 Tage	2,8	3,1	0	15	65	45	0,1	0,01 g
4,4	3 Tage	2,8	2,7	50	62	95	50	0,23	0,05

nahme : NO_3-Aufnahme zugunsten der NO_3-Aufnahme verschiebt, d. h. prozentual wird in den Schüttelkulturen neben Ammonstickstoff etwas mehr Nitrat assimiliert als bei gleichem pH-Wert in den Kontrollen. Jedoch ergibt sich in der Hauptsache das gleiche Bild wie für die bisher besprochenen Versuche: Die Nitrataufnahme beginnt erst bei sehr starker Azidität der Kulturlösung.

Die pH-Abhängigkeit der Nitrataufnahme in Ammonnitratkulturen ist durch keine der geprüften Bedingungen, weder durch das Alter, durch die Sauerstoffversorgung, noch durch die eventuell in die Lösung ausgeschiedenen Stoffe erheblich zu verändern. Der Wasserstoffionenkonzentration scheint also in der Tat die wichtigste Rolle zuzufallen.

IV. Die Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration für die Nitrataufnahme und Nitratreduktion.

In den vorher beschriebenen Versuchen hatte sich als besonders auffallend die pH-Abhängigkeit der Nitrataufnahme herausgestellt. Nun ist die erste Stufe der Nitratassimilation eine Nitratreduktion zu Nitrit und Ammoniak. Das ist durch die Arbeiten von Kostytschew und Tswetkowa (1920), Warburg und Negelein (1920), Klein-Eigner-Müller (1926), wie auch von Yamagata (1934) gesichert. Daher wäre einerseits denkbar, daß nur bei hoher Azidität die Bedingungen für die Nitratreduktion gegeben sind, und sich daraus die Abhängigkeit der Nitrataufnahme von der Wasserstoffionenkonzentration erklärt. Man könnte aber auch annehmen, daß die pH-Abhängigkeit der Nitratreduktion anders als die der Assimilation ist. Dann könnte sich die pH-Abhängigkeit der Nitratassimilation nur aus der pH-Abhängigkeit der Nitrataufnahme erklären. Diese Annahme würde voraussetzen, daß die Nitratreduktion erst innerhalb der Zelle stattfindet. Für die von

*) Nicht meßbar.

anderen Autoren (Klein-Eigner-Müller) vertretene Ansicht, daß sich die Nitratreduktion bereits in der Kulturflüssigkeit, also vor der Aufnahme in die Zelle vollzieht, könnte sprechen, daß die Reduktion von $NO_3 \rightarrow NO_2$ glatt in vitro geschieht. Daher wurde zunächst der Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration auf die Reduktion studiert. Es sollte festgestellt werden, ob die pH-Abhängigkeit der Reduktion in vitro mit der der Assimilation des Nitrats durch den Pilz übereinstimmt. Das war schon nach Versuchen von Dittrich (1931) an Preßsäften höherer Pflanzen unwahrscheinlich, da Dittrich ein Optimum der Nitratreduktion im Gebiet schwach alkalischer Reaktion fand. Neben Dittrich erzielte auch Eckerson (1924) Nitratreduktion in einer nitrathaltigen Lösung durch Zusatz von Pflanzenpreßsäften. Rossi (1929) erreichte Reduktion von Nitrat zu Nitrit mit Myzelextrakten von *Aspergillus niger*. Da *Aspergillus niger* demnach „nitratreduzierende Fermente" enthalten sollte, schien es möglich, zumal wenn eine NO_3-Reduktion im Medium vermutet wird, daß nicht nur mit Myzelextrakten, sondern auch mit 4—6 Tage alter Kulturlösung Nitratreduktion zu erzielen ist. Vorversuche bestätigten die Richtigkeit dieser Annahme. Für den fermentähnlichen Charakter der in den Lösungen vorhandenen reduzierenden Substanzen waren Versuche, bei denen Kohle oder Kaolin zugesetzt wurde, oder in denen die Lösungen während der Dauer von ¼ Stunde auf 110° erhitzt wurden, aufschlußreich. Bei diesen Versuchen wurde die Reduktionsfähigkeit der Kulturlösung stets vernichtet. Ebenso war die pH-Abhängigkeit der Wirksamkeit dieser Substanz ein Hinweis auf ihre fermentative Natur. Für die Versuche wurden 2 ccm einer durch ein gewöhnliches Filter filtrierten 4—6 Tage alten Kulturlösung als „reduzierende Substanz" verwandt. Diese 2 ccm wurden zu 20 ccm einer sterilisierten Nährlösung gegeben, und 1 ccm Toluol zwecks Haltbarmachung hinzugefügt. Die so erhaltenen Lösungen standen gleichzeitig mit Kontrollen ohne reduzierende Substanz während 24 Stunden bei 30° im Thermostaten. Tabelle 3 stellt das Ergebnis dieser Versuche dar.

Es wurde in allen Versuchen stets nur ein bestimmtes Maß an Reduktion erreicht. Wie die Tabelle 3 zeigt, wurde nie mehr als 10% der gegebenen Nitratmenge reduziert. Diese Tatsache spricht wohl, wie Dittrich auf Grund seiner ähnlichen Beobachtungen an Preßsäften von Zuckerrüben vermutet, für die Einstellung eines bestimmten Gleichgewichts auf Grund des Massenwirkungsgesetzes zwischen NO_3 und NO_2. Die Art des Filters, durch die die reduzierende Substanz enthaltene Kulturlösung gegeben wurde, hatte bei meinen Versuchen auf das Aus-

Tabelle 3.
Nitratreduktion durch Zusatz reduzierender Substanzen aus alter Kulturlösung.

pH der sterilisierten Nährlösung (Kontrollen)	pH der Nährlösung mit reduzierender Substanz	Abnahme des Nitrats in 24 Std. in % der ursprüngl. Menge	
		Kontrollen	Nährlösung mit reduzierender Substanz
6,4	6,4	0	10
4,4	4,4	0	10
2,9	2,9	0	10
2,5	2,5	0	10

maß und die Geschwindigkeit der Reduktion keinen Einfluß. So wurden mit Kieselgurfiltern die gleichen Resultate wie mit gewöhnlichen Filtern erzielt. Ein Optimum der Nitratreduktion konnte im Gebiet schwach alkalischer Reaktion verzeichnet werden, und zwar war in diesem pH-Bereich die Geschwindigkeit der Reduktion weit größer als im Gebiet saurer oder schwach saurer Reaktion. — Nach 7 bis 8 Stunden war bei pH 7,5 eine Nitratabnahme um 10% zu verzeichnen, die innerhalb 48 Stunden nicht größer wurde, während in der sauren Lösung (pH<6,4) die Reduktion erst nach 24 Stunden soweit fortgeschritten war. Dies ist aus der Tabelle 4 ersichtlich.

Tabelle 4.
pH-Abhängigkeit der Nitratreduktion.

pH der Nährlösung mit reduzierender Substanz	Abnahme des Nitrats in % der ursprünglichen Menge nach:			
	7–8 Std.	15 Std.	24 Std.	48 Std.
7,5	10	10	10	10
3,01	0	0	10	10

Es besteht demnach so wie bei den Versuchen Dittrichs an höheren Pflanzen bei schwach alkalischer Reaktion eine höhere Reduktionsintensität. Obwohl die pH-Abhängigkeit der Reduktion für den fermentativen Charakter der Nitratreduktion spricht, ist aber, wie nebenbei bemerkt sei, die Annahme eines besonderen nitratreduzierenden Ferments nicht notwendig, denn die Reduktion ist auch ohne ein spezifisches Ferment möglich.

Jedenfalls ist also die pH-Abhängigkeit der Assimilation nicht aus der pH-Abhängigkeit der Nitratreduktion zu erklären. Denn dann müßte die Reduktionsintensität gerade bei saurer Reaktion besonders hoch sein; es dürfte überhaupt nur bei pH<3,0 eine nennenswerte Reduktion des Nitrats erwartet werden. Aus diesem Resultat ergibt sich auch, daß die Reduktion nicht oder doch

nicht vorwiegend im Außenmedium stattfinden kann. Denn dann müßte ja bei neutraler oder schwach alkalischer Reaktion die größte Menge an Reduktionsprodukten zur Verfügung stehen, und die Verwertbarkeit des Nitrats bei neutraler Reaktion am besten sein. Der Befund von Klein-Eigner-Müller (1926), die die Reduktionsprodukte im Außenmedium fanden, spricht nicht gegen diese Annahme, da, wie auch die eigenen Versuche zeigten, diese Produkte, sowie auch NO_3 selber, wieder aus der Zelle austreten können. (Vgl. ferner Bach und Desbordes 1933, die finden, daß aufgenommenes NO_3 als NH_3 wieder aus der Zelle austreten kann.)

Eine gewisse Nitratreduktion muß natürlich im Medium stattfinden, da ja die reduzierenden Fermente dort vorhanden sind. Doch kann diese nicht ausschlaggebend sein, und es ist anzunehmen, daß nur ein ganz geringer Teil der Fermente an das Medium abgegeben wird.

Für die Ansicht, daß die Nitratreduktion im Medium stattfindet, ist auch angeführt worden, daß sich die Nitratassimilation der Pilze durch Zusatz von reduzierenden Substanzen zur Kulturlösung verstärkt. So soll nach Raciborski (1906) das Wachstum einer Nitratkultur von *Aspergillus niger* durch Zusatz von Reduktionsmitteln (Aluminiumpulver) gefördert, durch Zusatz von Oxydationsmitteln (H_2O_2, $KClO_3$) gehemmt werden. Hier sei nebenher auch der Befund von Green, Stickland und Tarr (1934) angeführt, daß durch Methylenblau die Reduktion von NO_3 zu NO_2 katalysiert werden kann. Es wurden zunächst die Angaben von Raciborski nachgeprüft. Die Versuche wurden so ausgeführt, daß gleichzeitig eine Kontrollkultur ohne Zusatz von Aluminiumpulver und eine Kultur, der auf 100 ccm Nährlösung 0,1 g Aluminiumpulver zugegeben waren, auf Stickstoffverbrauch wie Myzelgewicht vergleichend untersucht wurden. Tabelle 5 zeigt das Versuchsergebnis.

Tabelle 5.

Nitrataufnahme in aluminiumhaltigen Kulturen und in Kontrollen (NH_4NO_3-Kulturen).

Anfangs-pH	Kulturdauer	pH bei Versuchsende		NO_3-Verbrauch in % des Gegeb.		NH_3-Verbrauch in % des Gegeb.		Trockengewicht in g	
		Kontr.	Al.	Kontr.	Al.	Kontr.	Al.	Kontr.	Al.
4,6	2 Tage	3,1	3,3	32	0	65	85	0,12	0,20
4,6	4 Tage	3,2	3,2	95	50	98	98	0,45	0,30

In einer Ammonnitratkultur zeigt sich keine Förderung der Nitrataufnahme durch die reduzierende Substanz. Ebenso blieb das vegetative Wachstum hinter der mitgeführten Kontrolle zurück. Dieses Ergebnis

sollte aber auch an einer Kultur geprüft werden, die nur Kaliumnitrat als Stickstoffquelle enthielt. Es wurde wieder neben einer aluminiumhaltigen Kaliumnitratkultur eine Kontrollkultur zum Vergleich herangezogen. Aluminiumpulver wurde in der gleichen Menge wie im ersten Versuch zugegeben. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 6.

Tabelle 6.

Nitrataufnahme in aluminiumhaltigen KNO_3-Kulturen und in Kontrollen.

Anfangs-pH	Kultur-dauer	pH bei Versuchsende		NO_3-Verbrauch in % des Gegeb.		Trockengewicht	
		Kontr.	Al.	Kontr.	Al.	Kontr.	Al.
5,0	2 Tage	4,8	4,8	40	40	0,09	0,06
5,0	3 Tage	5,2	5,2	80	71	0,25	0,25

Auch dieser Versuch bestätigt die Angaben Raciborskis nicht. Es ist weder in Ammonnitrat- noch in Kaliumnitratkulturen eine Beschleunigung der Nitrataufnahme gegenüber der Kontrollkultur durch Aluminiumpulver zu verzeichnen. Diese negativ verlaufenen Versuche besagten aber noch nichts darüber, ob sich die Nitratreduktion durch Zusatz von Farbstoffen, die nach Green, Stickland und Tarr (1934) katalytische Prozesse in Fermentsystemen zum Ablauf bringen, nicht steigern ließe und damit eine erhöhte Nitratassimilation verbunden wäre. Als Farbstoff, der auch sonst an Oxydoreduktionsprozessen beteiligt sein kann, wurde Methylenblau gewählt, das von den genannten Autoren mit Erfolg verwandt worden war. Es wurde in einer Konzentration von 0,01% einer wässerigen Lösung benutzt. Zu 100 ccm Nährlösung wurden 5 Tropfen dieser Lösung gegeben. In Tabelle 7 werden die Versuchsergebenisse dargestellt.

Tabelle 7.

Nitrataufnahme in methylenblauhaltigen Kulturen (Mb) und in Kontrollen.

An-fangs-pH	Kultur-dauer	pH bei Versuchsende		NO_3-Verbrauch in % des Gegeb.		NH_3-Verbrauch in % des Gegeb.		Trockengewicht in g	
		Kontr.	Mb	Kontr.	Mb	Kontr.	Mb	Kontr.	Mb
4,4	4 Tage	3,0	2,4	77	30	99	98	0,3	0,31
4,4	6 Tage	3,1	2,6	65	80	96	93	0,35	0,34

Tabelle 7 zeigt, daß die Nitrataufnahme nicht gefördert wird, sondern, daß in methylenblauhaltigen Kulturen die Nitratassimilation langsamer als in den Kontrollen vor sich geht. Da die stark reduzierende Eigenschaft des Vitamin C bekannt ist, und mir ein reines Präparat der Ascorbinsäure dank der Freundlichkeit von Herrn Prof. Maurer zur Ver-

fügung stand, sollte auch hiermit noch ein Versuch angestellt werden. 0,05 g Vitamin C wurden 100 ccm Nährlösung zugegeben, und dann die Kulturen neben Kontrollen in üblicher Weise untersucht.

Tabelle 8.

Nitrataufnahme in Vitamin-C-haltigen Kulturen und in Kontrollen.

Anfangs-pH	Kulturdauer	pH bei Versuchsende		NO_3-Verbrauch in % des Gegeb.		NH_3-Verbrauch in % des Gegeb.		Trockengewicht in g	
		Kontr.	Vit. C	Kontr.	Vit. C	Kontr.	Vit. C	Kontr.	Vit. C
4,6	2 Tage	3,0	3,0	0	0	90	75	0,10	0,15
4,6	4 Tage	2,8	2,8	55	52	96	95	0,27	0,27

Die Zahlen der Tabelle zeigen, daß auch Vitamin C keinen fördernden Einfluß auf die Nitrataufnahme hat.

Die Angaben, daß Nitratreduktion in nennenswerter und ausschlaggebender Menge im Kulturmedium erfolgt, können somit, besonders aber auch auf Grund der vorher mitgeteilten verschiedenen pH-Abhängigkeit der Nitratreduktion und Nitratassimilation, nicht bestätigt werden.

Gleichzeitig sprechen unsere Erfahrungen gegen die neuerdings (z. B. von Tottingham u. Lease, 1934) mehrfach vertretene Ansicht, für die Stärke der Nitratverarbeitung sei die Höhe des Redoxpotentials ausschlaggebend, indem von diesem Faktor die Intensität der Reduktion abhänge. Wenngleich das Redoxpotential sicher wichtig ist, scheinen seine Schwankungen doch weniger wichtig zu sein als andere Faktoren. Deutlicher als die hier mitgeteilten Versuche wird das der nächste Abschnitt zeigen.

Nach Sakamura (1935) soll durch Zusatz von Schwermetallen zur Nährlösung die „Ammoniophilie oder Nitratophilie", d. h. die vornehmliche Resorption von Ammoniak oder Nitrat durch den Pilz in Ammoniumnitratkulturen weitgehend beeinflußt werden. Auf Grund der beobachteten pH-Änderung in der Lösung — bei Zusatz von Fe trat baldige Erniedrigung in der Azidität der Kulturlösung ein, Zusatz von Cu bewirkte Anstieg der H-Ionenkonzentration — wurde ein Rückschluß auf die ungleich starke oder schwache Aufnahme von Nitrat gezogen. Es war von Interesse, ob sich die Angabe Sakamuras durch Anwendung genauer Methoden bestätigen ließ, und sich gesteigerte Nitratassimilation wie Erniedrigung der H-Ionenkonzentration durch Zusatz von Fe feststellen ließe. Zu diesem Versuch wurden 100 ccm einer Ammoniumnitratkultur 5 Tropfen einer wässrigen 2%igen $FeCl_3$-Lösung zugesetzt. Tabelle 9 zeigt die Versuchsergebnisse.

Tabelle 9.

Nitrataufnahme in $FeCl_3$-haltigen Kulturen und in Kontrollen.

Anfangs-pH	Kultur-dauer	pH bei Versuchsende		NO_3-Verbrauch in % des Gegeb.		NH_3-Verbrauch in % des Gegeb.		Trocken-gewicht in g	
		Kontr.	$FeCl_3$	Kontr.	$FeCl_3$	Kontr.	$FeCl_3$	Kontr.	$FeCl_3$
4,4	2 Tage	3,0	2,9	0	0	75	78	0,12	0,17
4,4	4 Tage	2,9	2,4	50	30	98	98	0,29	0,28

Es war in den Kulturen mit $FeCl_3$-Zusatz weder schnellere Erniedrigung der H-Ionen-Konzentration noch gesteigerte Nitratassimilation zu bemerken. *Aspergillus niger* verhält sich demnach anders, als es *Aspergillus oryzae* nach Sakamura tut. Jedenfalls dürfte aber auch für diesen Pilz der Schluß von der betreffenden Änderung der H-Ionen-Konzentration auf die Art des N-Verbrauchs nicht gesichert sein. Die Wasserstoffionenkonzentration kann sich auch durch andere stoffwechselphysiologische Vorgänge, z. B. Säureproduktion verschiedener Intensität, ändern. Jedoch kann die Bedeutung der Schwermetalle für die Nitratassimilation trotzdem bestehen, denn die hierbei erforderliche geringe Menge wird stets als Verunreinigung der zur Anwendung kommenden Chemikalien in der Nährlösung vorhanden sein.

V. Die Bedeutung der intrazellulären Wasserstoffionenkonzentration für die Nitratassimilation.

Suchen wir nach einer Erklärung für die pH-Abhängigkeit der Nitratassimilation, so ließe sich, nachdem wir eine Erklärung durch die pH-Abhängigkeit der Reduktion als unmöglich erkannt haben, an Gedankengänge anknüpfen, die darauf hinweisen, daß die Wasserstoffionenkonzentration die elektrische Ladung der Plasmagrenzflächen wesentlich beeinflußt. Amphotere Kolloide sind je nachdem, ob die Wasserstoffionenkonzentration größer oder kleiner ist als die des isoelektrischen Punktes des betreffenden Kolloids, positiv oder negativ geladen. Dadurch ist nach Robbins (1924), Rippel (1931) u. a. die ungleiche Aufnahme von Anionen und Kationen rechts vom IEP, d. h. in weniger saurem Gebiet, und links vom IEP, d. h. bei mehr saurer Reaktion, zu verstehen. Es verdient auch Erwähnung, daß Michaelis (1926) an Modellversuchen gezeigt hat, daß positiv geladene Membranen die Kationenaufnahme verzögern, negativ geladene Membranen die Anionenaufnahme hemmen. Auch haben Wl. und W. W. Butkewitsch (1929) an Kollodiummembranen festgestellt, daß die Aufnahme von Ammoniak und Nitrat je nach der H-Ionen-Konzentration verschieden ist. Mit stei-

gendem pH nimmt die Diffusionsgeschwindigkeit für NH_4^+ zu, und umgekehrt sinkt sie für NO_3^-. Diese Versuche zeigen also, daß H-Ionen die Aufnahme von Anionen, OH-Ionen die Aufnahme von Kationen begünstigen. Ebenfalls sind Versuche von Collander (1921) und Irvin (1923), die sich mit der Aufnahme von sauren und basischen Farbstoffen beschäftigen, von mehreren Autoren in diesem Sinn ausgewertet worden. Aus diesen Versuchen könnte geschlossen werden, daß der IEP, bzw. die Ladung der Plasmakolloide, die davon abhängig ist, ob der gegebene pH-Wert größer oder kleiner als der des IEP ist, für die Ionenaufnahme von Bedeutung ist. In neueren Arbeiten (Tamiya 1928/29, Rippel 1931) ist für die ungleiche Aufnahme von NH_4^+ und NO_3^- ebenfalls auf den IEP Bezug genommen worden. Die pH-Abhängigkeit der Nitrataufnahme wird durch das Vorhandensein eines oder in besonderen Fällen eventuell mehrerer IEP und der Umladbarkeit der Plasmakolloide erklärt. So meinte Rippel auf Grund dieser Versuche, daß *Aspergillus oryzae* rechts vom IEP (pH größer als 4,25) wohl Ammoniak, aber kein Nitrat assimiliert. Dagegen nimmt der Pilz links vom IEP sowohl Ammoniak als auch Nitrat auf. Für *Aspergillus oryzae* stellte Rippel demnach eine gewisse Abhängigkeit der Stickstoffassimilation vom IEP fest. Ähnliche Gedankengänge haben Dashir und Kalyani (1934) vertreten, und sogar die bei höheren Pflanzen gefundene Abhängigkeit der Nitrataufnahme vom Alter der Pflanze aus den mit dem Altern verbundenen Veränderungen der elektrischen Ladung erklären wollen. Diese Annahmen würden aber voraussetzen, daß die Salzaufnahme eine Aufnahme elektrisch geladener Teilchen ist, daß also die Salze in Form ihrer Ionen permeieren. Gegen diese Ansicht sprechen aber, wie bekannt ist, die Versuche anderer Autoren (Osterhout [1925, 1931], Ruhland, Ullrich und Yamaha [1931], Pirschle und Mengdehl [1931]), die sich entweder für das Eindringen von undissoziierten Molekülen oder von Ionenpaaren, also für das Eindringen der Salze in elektroneutraler Form entscheiden. Auch ist die Ansicht Rippels, daß die Nitratassimilation allein durch „den IEP" bestimmt wird, nicht experimentell begründet, da der IEP der Plasmakolloide nicht wirklich gemessen, sondern gleich dem Umschlagspunkt der Ammoniak- und Nitrataufnahme angenommen wird. In gewissem Sinn wird also das vorausgesetzt, was erst zu beweisen wäre. Wenn die pH-Abhängigkeit der Außenlösung entscheidend ist, muß auch angenommen werden, daß die H-Ionenkonzentration an der Plasmaoberfläche mit der der Außenlösung übereinstimmt. Denn sonst könnte aus der pH-Abhängigkeit des untersuchten physiologischen Prozesses nicht auf die pH-Abhängigkeit der elektrischen

Ladung der Plasmaoberfläche geschlossen werden. Als wichtigstes Argument gegen diese Ansicht, daß für die Aufnahme von Nitrat entscheidend ist, ob der pH-Wert größer oder kleiner als der des IEP der Plasmaoberfläche ist, läßt sich anführen, daß es gelingt, doch auf eine Art die pH-Abhängigkeit der Nitrataufnahme erheblich zu verschieben; benutzen wir als Stickstoffquelle Kaliumnitrat anstatt Ammonnitrat, so ergibt sich folgendes Bild (Tabelle 10).

Tabelle 10.
Nitrataufnahme in KNO_3-Kulturen.

Anfangs-pH	Kultur-dauer	pH bei Versuchsende	NO_3-Verbrauch in % des Gegebenen	Trocken-gewicht in g
3,4	2 Tage	4,3	23	0,02
3,4	4 Tage	6,5	90	0,25
4,8	2 Tage	5,9	30	0,06
4,8	4 Tage	6,0	94	0,22

Die Tabelle 10 und auch Figg. 3. u. 4 zeigen, daß die Nitrataufnahme jetzt nicht, wie bei Verwendung von Ammonnitratnährlösung, erst bei pH kleiner als 3,0 beginnt. In Kaliumnitratkulturen fängt der Pilz also schon bei geringerer Azidität an, Nitrat zu assimilieren. Nach 32 Stunden ist bei einem Ausgangs-pH von 4,4 der Beginn der Nitratassimilation bei einem pH von 5,4 zu verzeichnen. Es scheint demnach, daß die pH-Abhängigkeit der Nitratassimilation erheblich anders geworden ist. Jedoch läßt sich auch in Kaliumnitratkulturen eine bestimmte pH-Abhängigkeit der Nitratassimilation feststellen, die der in Ammoniumnitratkulturen ähnlich ist und sich von ihr nur quantitativ unterscheidet. Berechnen wir, wie groß der Nitratverbrauch, bezogen auf die Gewichtseinheit während 24 Stunden, bei verschiedenen pH-Werten ist, so zeigt sich, daß bei

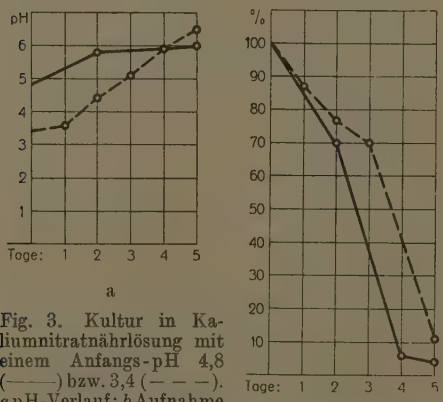


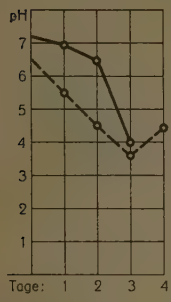
Fig. 3. Kultur in Kaliumnitratnährlösung mit einem Anfangs-pH 4,8 (———) bzw. 3,4 (— — —). *a* pH-Verlauf; *b* Aufnahme von Nitrat (auf der Ordinate ist die noch vorhandene Menge Nitrat in % der gegebenen verzeichnet).

Tabelle 11.

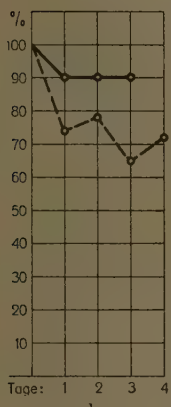
pH-Abhängigkeit der Nitrataufnahme in KNO_3-Kulturen.

Die ermittelten Werte ergeben sich aus Versuchsergebnissen an 3 Tage altem Myzel und sind auf gleiches Myzelgewicht umgerechnet.

Anfangs-pH	Myzel-gewichtseinheit in g	NO_3-Verbrauch in 24 Stunden in g	Gewichtszunahme in 24 Stunden in g
3,4	0,1	0,253	0,12
4,8	0,1	0,114	0,07



a



b

Fig. 4. Wie Fig. 3, jedoch Anfangs-pH 7,2 (———) bzw. 6,5 (– – –).

höherer Azidität mehr Nitrat vom Myzel verbraucht wird. Das zeigt Tabelle 11. Kultivieren wir den Pilz in einer Nährlösung, die viel H-Ionen enthält, so ist die Nitrataufnahme gefördert. Ganz deutlich geht diese pH-Abhängigkeit auch aus den Kurven hervor, die Kaliumnitratkulturen bei einem Ausgangs-pH von 6,5 bzw. 7,2 darstellen.

In schwach saurem wie neutralem pH-Bereich ist es dem Pilz nicht möglich, Nitratstickstoff in genügender Menge aufzunehmen. Die Nitratassimilation beginnt zwar, jedoch in ganz geringem Maße, so daß der Pilz in vegetativer wie fertiler Hinsicht vollkommen zurückbleibt. Es wird kaum Myzel gebildet. Dies zeigt am besten Fig. 5, die die Erntegewichte von Kulturen mit alkalischem und saurem Ausgangs-pH darstellt. Der Mangel an Stickstoff macht sich auch noch auf andere Weise bemerkbar. In den Kulturen bei pH 7,2, 6,5 wird die Reaktion der Nährlösung stark sauer. Der Pilz greift zwar den Stickstoff auch bei pH 6,5 bzw. 7,2 an, jedoch nicht in genügendem Ausmaß, sodaß wohl infolge der mangelnden Stickstoffernährung starke Säurebildung eintritt.

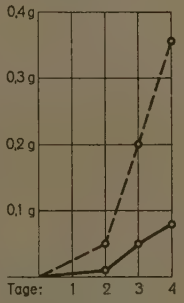


Fig. 5. Erntegewichte von Kaliumnitratkulturen mit einem Anfangs-pH 7,2 (———) bzw. 4,8 (– – –). Ordinate: Myzeltrockengewicht.

Auch zeigt der pH-Verlauf in KNO_3-Kulturen mit den Ausgangs-pH-Werten 3,4 bzw. 4,8, wo der Pilz genügend Stickstoff assimiliert, ein völlig anderes Aussehen. Wie zu erwarten, steigt das pH infolge der Resorption von NO_3 und nähert sich

dem Bereich neutraler Reaktion. Verwenden wir $Ca(NO_3)_2$ als Stickstoffquelle für den Pilz, so ergibt sich das gleiche Bild wie in KNO_3-Kulturen. Auch hier ist Nitrataufnahme bei pH-Werten über 3,0 festzustellen. Dies mögen einige Zahlen zeigen.

Tabelle 12.

Nitrataufnahme in $Ca(NO_3)_2$-Kulturen.

Anfangs-pH	Kulturdauer	pH bei Versuchsende	NO_3-Verbrauch in % des Gegebenen
4,4	2 Tage	4,13	25
4,4	4 Tage	3,9	50

Wie aus den Versuchen mit KNO_3 und $Ca(NO_3)_2$ als N-Quelle hervorgeht, läßt sich die pH-Abhängigkeit der Nitratassimilation nicht aus einer pH-Abhängigkeit der Nitratpermeabilität im Sinne der oben erwähnten Auffassung von Rippel erklären, kann doch offensichtlich Nitratstickstoff sowohl bei pH-Werten unter 3,0 wie auch bei pH-Werten über 3,0 in die Zelle eindringen. Nun ließe sich einerseits einwenden, daß die Ladung der Plasmaoberfläche nicht so sehr vom pH-Wert der extrazellulären wie von dem der intrazellulären Flüssigkeiten abhängt, und ferner könnte man vermuten, daß sich die Nitratdurchlässigkeit infolge einer Änderung des IEP in einer nitrathaltigen Lösung erheblich ändert. Daß diese Annahmen nicht richtig sind, zeigen Versuche, aus denen sich ergibt, daß die pH-Abhängigkeit der Nitratassimilation nur durch die Nitratspeicherung in der Zelle

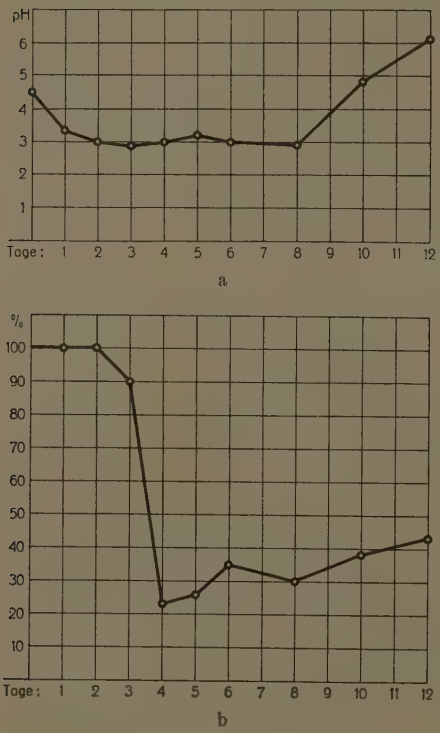


Fig. 6. pH-Abhängigkeit der Nitratspeicherung. *a* pH-Verlauf; *b* in der Nährlösung vorhandene Menge Nitrat in % der gegebenen.

verständlich ist. Vor allem beweisen diese gleich zu besprechenden Versuche auch, daß Nitrat unabhängig vom pH permeieren kann; denn erhöht sich das pH, so kann, wie wir sehen werden, Nitrat wieder aus der Zelle austreten. Wird nämlich Nitrat bei pH<3 in die Zelle aufgenommen, so ist damit nicht zwangsläufig eine Verarbeitung des Nitrats verbunden. Daß es sich hier nur um eine Speicherung von Nitrat handeln kann, geht aus der Tatsache hervor, daß Nitrat bei einer Erhöhung des pH-Werts wieder aus der Zelle austritt. Das zeigt sowohl eine kurvenmäßige Abbildung (Fig. 6) wie die Zahlen der Tabelle 13.

Tabelle 13.

Nitratgehalt der Nährlösung.

(Nachweis, daß Nitrat vom Pilz aufgenommen und bei Erhöhung des pH-Wertes wieder in die Lösung austreten kann.)

Anfangs-pH	Kulturdauer	pH nach dieser Zeit	NO_3-Gehalt der Nährlösung in % des Gegebenen
4,6	4 Tage	3,0	23
4,6	10 „	4,8	37
4,6	12 „	6,1	43
2,8	4 „	3,0	12
2,8	8 „	5,0	28

Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß der Nitratgehalt der Lösung wieder erhöht werden kann, wenn die H-Ionenkonzentration sich verringert. Die Kurve zeigt uns aber auch, daß Nitrat bei erneutem Sinken des pH-Werts wieder in die Zelle aufgenommen wird, daß der Pilz also unter gegebenen Bedingungen (pH<3,0) immer fähig ist, Nitrat zu speichern. Demzufolge wird das aufgenommene Nitrat nicht völlig oder vielleicht sogar nur zum sehr geringen Teil vom Pilz gleich verarbeitet, vielmehr zunächst nur gespeichert. Hierbei erfolgt eine erhebliche Akkumulierung von Nitrat in der Zelle. Die Innenkonzentration von Nitrat kann 3—4fach so hoch werden wie die Nitratkonzentration der Lösung. Dies zeigen folgende Messungen. Das Frischgewicht wurde durch Abtrocknen des Myzels mit Filtrierpapier und sofortiges Wägen ermittelt, es betrug das 10fache des Trockengewichts. Nun wurden in einem Versuch von 3,3 g Myzel (Frischgewicht) 74% des Nitrats aus 20 ccm Ammonnitratnährlösung gewöhnlicher Zusammensetzung aufgenommen. Das Pilzvolumen beträgt unter der Annahme eines spez. Gewichts von 1,0 etwa $^1/_6$ desjenigen der Lösung. Um Konzentrationsgleichheit innen und außen zu erzielen, wäre ein Verbrauch von 18% Nitrat nötig. Es sind aber 74%, also das 4fache jener Menge vom Myzel aufgenommen worden.

Somit ergibt sich, daß durchgängig das 3—4fache an Nitrat in die Zelle aufgenommen wird von dem, was für Konzentrationsgleichheit nötig wäre.. An dem Speichervermögen der Zelle ist also nicht zu zweifeln. Diese Eigenschaft des Pilzes bedingt offensichtlich die besondere Art der Nitratassimilation: Die pH-Abhängigkeit der Nitratassimilation stimmt, wie die vorhergehende Tabelle und die abgebildeten Kurven zeigen, mit der pH-Abhängigkeit der Speicherung überein. Die Speicherung, die sicher im Zellsaft erfolgt, da ja der Anteil des Plasmas am Zellvolumen sehr gering ist, ist also wohl von der H-Ionen-Konzentration des Zellinnern abhängig. Auf die Ursachen dieser Abhängigkeit der Nitratspeicherung von der Wasserstoffionenkonzentration und auf den Mechanismus der Nitratspeicherung wird Bünning (1936) näher eingehen.

Die Nitratspeicherung im Myzel kann auch durch das Außenmedium mit beeinflußt werden. Hierdurch läßt sich auch das Ergebnis der KNO_3 und $Ca(NO_3)_2$-Kulturen, besonders die Unterschiede gegenüber den NH_4NO_3-Kulturen verständlich machen. Für die Speicherung in der Zelle ist ein bestimmtes pH des Zellsaftes notwendig. Wird nun infolge der Gegenwart von NH_3, das in die Zelle eindringt, die Wasserstoffionenkonzentration des Zellinnern verringert und niedrig gehalten, so bedarf es eines sehr niedrigen Außen-pH, um die Innenkonzentration der Wasserstoffionen so hoch werden zu lassen, daß die Nitratspeicherung beginnen kann. In KNO_3-Kulturen ist es durch den Mangel an NH_3 möglich, daß schon bei höherem Außen-pH das Innen-pH erreicht wird, bei dem NO_3 in der Zelle gespeichert werden kann. Es ist also verständlich, warum in KNO_3-Kulturen die NO_3-Assimilation schon bei pH über 3,0 beginnt. Daß, wie hier vorausgesetzt, die Wasserstoffionenkonzentration des Zellsaftes durch die Gegenwart von Ammonsalzen erniedrigt wird, ist bekannt und zeigte sich u. a. bei den Versuchen von Ribbert (1931), der das Eindringen von NH_3 und damit Erhöhung des pH des Zellsaftes durch den Umschlag natürlicher Farbindikatoren von Pflanzen nachwies.

Bei Mangel an Ammonstickstoff und geringer Azidität der Nährlösung kann der Pilz das vorhandene Nitrat bei einer H-Ionenkonzentration angreifen, die sonst für die Nitratassimilation noch zu gering ist. Diese vorzeitige Nitratassimilation in KNO_3-Kulturen bei Mangel an Ammonstickstoff kann demnach als eine Regulation betrachtet werden.

Wir haben uns bisher fast ausschließlich mit der Nitratassimilation beschäftigt. Zum Schluß sei noch kurz die Aufnahme von Ammoniak besprochen. Eine besonders starke pH-Abhängigkeit der Ammoniakaufnahme ließ sich nicht feststellen. Hierfür seien einige Zahlen angeführt.

Tabelle 14.

pH-Abhängigkeit der Ammoniakaufnahme aus Ammoniumnitratnährlösungen.

(Die Zahlen ergeben sich aus Versuchsergebnissen an 2 Tage altem Myzel und sind auf Myzelgewichtseinheit umgerechnet.)

Ausgangs-pH	Myzel-Gewichtseinheit in g	NH_3-Verbrauch in 24 Stunden in g	Gewichtszunahme in 24 Stunden in g
6,4	0,1	0,064	0,05
5,0	0,1	0,080	0,11
4,6	0,1	0,0514	0,11
2,8	0,1	0,0285	0,18

Wie aus der Tabelle hervorgeht, besteht eine pH-Abhängigkeit der Ammonaufnahme in dem Sinn, daß Ammoniak bei höherem pH in größerer Menge in die Zelle eintritt als bei niederem pH. Dies wird besonders deutlich, wenn berücksichtigt wird, daß der Pilz bei pH 2,8, also bei sehr hoher H-Ionenkonzentration, in 24 Stunden eine beträchtliche Gewichtszunahme erfährt, jedoch sehr wenig Ammoniak assimiliert. Obwohl demzufolge die Ammoniakaufnahme durch geringe H-Ionenkonzentration begünstigt wird, wird sie im Gebiet stark saurer Reaktion doch nicht völlig gehemmt. Es steht fest, daß *Aspergillus niger* fähig ist, Ammoniak auch trotz großer H-Ionenkonzentration zu assimilieren. Nach allen vorliegenden Untersuchungen (Bach und Desbordes 1933, Sakamura und Kanamori 1935) kann Ammoniak im wesentlichen nur als Molekül in die Zelle eindringen. Es scheint aber für die Verwertbarkeit von Ammoniak nicht die Menge der undissoziierten NH_4OH bzw. HNO_3-Moleküle in der Nährlösung ausschlaggebend zu sein; denn bei großer Azidität ist der Anteil der undissoziierten Moleküle so gering, daß nicht nur die gefundene etwas geringere Aufnahme von Ammoniak, sondern überhaupt keine Assimilation von Ammoniak mehr zu erwarten wäre, wenn für die Intensität der Assimilation der Dissoziationsgrad entscheidend wäre. Nun kommt es aber für die Geschwindigkeit des Permeierens von Ammoniak gar nicht in erster Linie auf die Menge der in der Lösung vorhandenen undissoziierten Moleküle, sondern auf die Größe des chemischen Ungleichgewichts zwischen dem Zellinnern und der Nährlösung an, und dieses Ungleichgewicht kann selbst dann beachtlich sein, wenn in der Nährlösung keine meßbare Konzentration undissoziierter Moleküle mehr vorhanden ist. Das kann schon durch einen Hinweis auf die Versuche Osterhouts (1925, 1929) verständlich werden. Osterhout untersuchte die Aufnahme starker Elektrolyte, vor allem von KOH, in die *Valonia*zelle. Bei starken Elek-

trolyten ist keine meßbare Konzentration undissoziierter Moleküle vorhanden. Trotzdem kann ein chemisches Potentialgefälle bestehen, welches ermöglicht, daß Kalium in die Zelle als KOH eindringt. Dieses chemische Potentialgefälle besteht nach thermodynamischen Erwägungen dann, wenn die Ionenprodukte $[K^{\cdot}]\,[OH']$ im Zellinnern und $[K^{\cdot}]\,[OH']$ in der Außenlösung nicht gleich sind. Solches Ungleichgewicht kann in erheblichem Maß auch dann bestehen, wenn meßbare Konzentrationen undissoziierter Moleküle innen und außen nicht vorhanden sind. Ein chemisches Gleichgewicht besteht also nur dann, wenn $[K^{\cdot}]\,[OH']$ im Innern der Zelle gleich dem Ionenprodukt $[K^{\cdot}]\,[OH']$ in der Außenlösung ist. Solange ein Ungleichgewicht besteht, kann eine Salzaufnahme stattfinden. Das gilt sinngemäß auch für die Ammonaufnahme. Für die Assimilation von Ammoniak ist es nicht nötig, daß große Mengen von Ammoniak in der Zelle angesammelt werden. Dies ist nur für die Erzielung einer Giftwirkung von Ammoniak notwendig. (Hierbei dürfte es in der Tat darauf ankommen, daß die H-Ionenkonzentration im Medium möglichst größer ist als in der Zelle, um so zu erreichen, daß das Gleichgewicht $[NH_4^{\cdot}]\,[OH']$ innen gleich $[NH_4^{\cdot}]\,[OH']$ außen erst erreicht wird, wenn innen sehr viel Ammoniak ist.) Für die Verwertung des Ammoniaks im Eiweißaufbau kommt es darauf an, daß Ammoniak in dem Maß permeiert, wie es von der Zelle verbraucht wird. Selbst wenn die H-Ionenkonzentration im Medium hoch ist, und die Gleichgewichtsbedingung: $[NH_4^{\cdot}]\,[OH']$ innen gleich $[NH_4^{\cdot}]\,[OH']$ außen daher schon erreicht wird, wenn sehr wenig Ammoniak eingedrungen ist, könnte diese geringe Menge doch zur Assimilation genügen, weil durch ihren Verbrauch das thermodynamische Gefälle und damit die Möglichkeit zu weiterer Ammoniakaufnahme stets wieder hergestellt wird.

VI. Zusammenfassung der Ergebnisse.

Die Art der Stickstoffaufnahme durch *Aspergillus niger* wird in Ammonnitratkulturen mit verschieden großer H-Ionenkonzentration vergleichend untersucht. Der Pilz assimiliert zunächst Ammonstickstoff. Die Nitrataufnahme beginnt erst bei pH unter 3,0, und zwar auch dann, wenn noch genügend Ammonstickstoff in der Nährlösung vorhanden ist. Dieser Modus der Stickstoffernährung läßt sich durch Veränderung der Kulturmethode, durch die der Einfluß wichtiger Faktoren — des Alters, der Sauerstoffversorgung, bestimmter Substanzen in der Kulturlösung — auf die Stickstoffassimilation geprüft werden sollte, nicht wesentlich beeinflussen. Sowohl in Kulturen mit „fertigen Pilzdecken" wie in „Schüttelkulturen" wird keine auffällige Umstimmung der Stickstoff-

ernährung erzielt. Die von mehreren Autoren betonte Wichtigkeit der Wasserstoffionenkonzentration für die Assimilation von Ammon- und Nitratstickstoff wird bei *Aspergillus niger* bestätigt.

Die besonders auffallende Bedeutung der H-Ionenkonzentration für die Nitratassimilation wurde eingehender untersucht. Um zu prüfen, ob sich die pH-Abhängigkeit der Nitratassimilation aus einer pH-Abhängigkeit der Nitratreduktion erklärt, wurde zunächst die pH-Abhängigkeit der Nitratreduktion ermittelt. Dies geschah durch Versuche mit den vom Pilz gebildeten reduzierenden Substanzen, die in alten Kulturlösungen enthalten sind und Nitrat zu reduzieren vermögen. Ein Optimum der Nitratreduktion liegt im Gebiet schwach alkalischer Reaktion (pH = 7,5). Da die Nitratassimilation aber erst bei pH < 3,0 einsetzt, ist die pH-Abhängigkeit der Nitratassimilation nicht aus der pH-Abhängigkeit der Nitratreduktion erklärbar. Daraus folgt, daß die Nitratreduktion im wesentlichen nicht in der Außenlösung stattfinden kann; es wäre sonst eine Übereinstimmung der pH-Abhängigkeit der Nitratreduktion mit der der Assimilation zu erwarten.

Versuche mit Kaliumnitrat als Stickstoffquelle zeigen, daß sich die pH-Abhängigkeit der Nitratassimilation in KNO_3-Kulturen ändert. *Aspergillus niger* beginnt dann schon bei einem pH-Wert von 5,4, also bei weit geringerer H-Ionenkonzentration, Nitrat zu assimilieren. Da die Plasmakolloide in den Plasmagrenzschichten je nachdem, ob die H-Ionenkonzentration größer oder kleiner als der IEP der Kolloide ist, positiv oder negativ geladen sein können, Nitrat jedoch bei pH unter 3,0 wie auch über 3,0 in die Zelle permeiert, so ist die Rolle der H-Ionenkonzentration nicht, wie gelegentlich angenommen wurde, aus der elektrischen Ladung der Plasmakolloide verständlich. Die Richtigkeit der Behauptung, daß Nitrat sowohl bei pH unter 3,0 wie auch bei pH über 3,0 in die Zelle permeieren sowie aus ihr wieder in das Medium diffundieren kann, wird durch Versuche mit Ammonnitratnährlösungen nachgewiesen, in denen der Gehalt der Nährlösung an Nitrat mit fallendem pH sinkt, mit steigendem pH wieder zunimmt. Die Bedeutung der H-Ionenkonzentration für die Nitratassimilation ist demnach auch nicht aus dem Permeationsvermögen der HNO_3-Moleküle zu erklären. Dagegen stimmt die pH-Abhängigkeit der Nitratassimilation mit der pH-Abhängigkeit der Nitratspeicherung überein. Die Zelle ist fähig, bei pH unter 3,0 sehr viel Nitratstickstoff aufzunehmen, der aber nur zum geringen Teil verarbeitet wird; denn mit einer Erhöhung des pH-Werts tritt ein Teil des gespeicherten Nitrats wieder aus der Zelle aus.

Im Vergleich mit der pH-Abhängigkeit der Nitratassimilation ist die pH-Abhängigkeit der Ammoniakaufnahme nur schwach ausgeprägt. Zwar nimmt der Pilz bei hohem pH mehr Ammoniak auf als bei niederem pH, die Aufnahme von Ammoniak ist aber im Bereich sehr saurer Reaktion nicht völlig gehemmt. Das ist insofern bemerkenswert, als die Menge der undissoziierten NH_4OH-Moleküle bei pH unter 6 praktisch gleich Null ist, während angenommen werden muß, daß nur die undissoziierten Moleküle permeieren können. Die auch im Gebiet saurer Reaktion noch relativ starke Assimilation von Ammonstickstoff ist trotzdem verständlich; denn das für die Permeation notwendige chemische Potentialgefälle zwischen dem Zellinnern und der Umgebung kann auch bei Fehlen einer meßbaren NH_4OH-Konzentration in der Nährlösung bestehen. Für die Intensität der Assimilation wird es nicht wie zur Erzielung von Ammoniakvergiftungen auf die in der Zelle erreichte Ammoniakkonzentration ankommen. Vielmehr könnte die Verwertung des Ammoniaks schon bei einer geringen intrazellulären Ammoniakkonzentration optimal sein. Eine zu hohe Ammoniakkonzentration könnte im Gegenteil schädlich wirken.

Die vorliegende Arbeit wurde auf Anregung von Herrn Dr. Bünning im Botanischen Institut der Universität Jena ausgeführt. Herrn Dr. Bünning bin ich für die mannigfache Förderung und das stete Interesse an der Arbeit zu großem Dank verpflichtet.

Literatur.

Alten, F. u. Weiland, H., Vergleichende Untersuchungen über die kolorimetrischen Methoden der Nitratbestimmung. Z. Pflanzenernährung, Düngung und Bodenkunde, **A 32,** 337 (1933). — Bach, D., Variations de la concentration en ions hydrogène sous l'influence de l'assimilation des nitrates par l'Aspergillus repens de Bary. C. r. Acad. Sc. Paris **178,** 520. — Ders. u. Desbordes, D., La transformation directe des nitrates en ammoniaque par le mycelium des champignons inférieurs. Ebenda **197,** 1463, 1772 (1933). — Boas, F., Die Bildung löslicher Stärke im elektiven Stickstoff-Stoffwechsel. Ber. Deutsch. Bot. Ges. **37,** 50 (1919). — Bünning, E., Wachstum und Stickstoffassimilation bei Aspergillus niger unter dem Einfluß von Wachstumsregulatoren und von Vitamin B. Ebenda **22,** 423 (1934). — Ders., Über die Farbstoff- und Nitrataufnahme bei Aspergillus niger. Flora, N. F. **31,** 87 (1936). — Butkewitsch, Wl. u. Butkewitsch, W. W., Über Wechselwirkungen von Ionen bei Diffusionsvorgängen. Bioch. Z. **204,** 303 (1929). — Butkewitsch, W. W., Zur Frage über den Mechanismus der Nährstoffaufnahme durch die Pflanze. Landw. Jahrb. **69,** 521 (1929). — Clark, H. E. u. Shive, J. W., The influence of the ph of a culture solution on the rates of absorption of ammonium and nitrate nitrogen by the tomato-plant. Soil Sci. **37,** 203 (1934). — Collander, R., Über die Permeabilität pflanzlicher Protoplasten für Sulfosäurefarbstoffe. Jahrb. wiss. Bot. **60,** 354 (1921). — Ders., Turpeinen, O. u. Fabritius, E., Die Permeabilität der Rhoeo-Zellen für Ammoniak und Essigsäure. Protoplasma **13,** 348 (1931). — Cooper, W. J., Dorcas, M. J. u. Osterhout, W. J., The penetration of strong electrolytes. J. gen. Physiol. **12,** 427 (1929). — Ders. u. Osterhout, W. J., The accumulation of electrolytes I. The entrance of ammonia into Valonia macrophysa. Ebenda **14,** 117 (1931). — Dastur, R. H. u. Malkani, T. J., The intake of nitrogen by the rice plant (Oryza sativa). Ind. Journ. agric. Sc. **3,** 157 (1933). — Ders. u. Kalyani, V. V., Indian J. agr. Sci. **4,** 803 (1934). Zit. nach Pirschle, Fortschr. d. Bot. **5,** 188 (1936). — Dittrich, W.,

Zur Physiologie des Nitratumsatzes in höheren Pflanzen. (Unter besonderer Berücksichtigung der Nitratspeicherung.) Planta **12,** 69 (1931). — Eckerson, S., Proteinsynthesis by plants I. Nitrate reduction. Bot. Gaz. **77,** 377 (1924). — Green, D. E., Stickland, L. H. u. Tarr, Studies on reversible dehydrogenase systems. Bioch. J. **28,** 1813 (1934). — Hoagland, R. u. Davis, A. R., The composition of the cellsap of the plant in relation to the absorption of ions. J. gen. Physiol. **5,** 629 (1923). — Irwin, M., The permeability of living cells to dyes as effected by hydrogen ion concentration. Ebenda **5,** 233 (1923). — Jaques, A. G. u. Osterhout, W. J., The accumulation of electrolytes. Ebenda **14,** 301 (1931). — Janke, A. u. Sekera, S., Die Bestimmung des Wasserstoffexponenten mittels des Pulfrich-Photometers II. Biochem. Z., 362 (1932). — Klein, G., Die Nitratassimilation der höheren Pflanzen. Sitzungsber. d. Akad. d. Wiss. Wien, Math.-Naturwiss. Kl., Abt. 1, **134,** 107 (1925). — Ders., Eigner, A. u. Müller, H., Nitratassimilation bei Schimmelpilzen. Z. physiol. Chem. **159,** 201 (1926). — Kluyver, L. A. u. Perquin, L. H. C., Zur Methodik der Schimmelstoffwechseluntersuchung. Biochem. Z. **266,** 68 (1933). — Kostytschew, S., Lehrbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. I. Berlin 1926. — Ders. u. Tswetkova, E., Über die Verarbeitung der Nitrate durch Schimmelpilze. Z. physiol. Chem. **111,** 172 (1920). — Kultzscher, M., Die biologische NH_3-Entgiftung in höheren Pflanzen in ihrer Abhängigkeit von der Wasserstoffionenkonzentration des Zellsaftes. Planta **17,** 699 (1932). — Loo, T. L., The effect of renewal of nutrient solutions upon the growth of culture plants and its relation to aeration. Jap. J. of Bot. **4,** 71 (1928/29). — Lundegårdh, H., Die Nährstoffaufnahme der Pflanze. Jena (1932). — Mevius, W., Die Wirkung der Ammoniumsalze in ihrer Abhängigkeit von der Wasserstoffionenkonzentration. Planta **6,** 379 (1928). — Ders. u. Engel, H., Die Wirkung der Ammoniumsalze in ihrer Abhängigkeit von der Wasserstoffionenkonzentration II. Ebenda **9,** 1 (1929). — Ders. u. Dikussar, J., Nitrite als Stickstoffquellen für höhere Pflanzen. Ein Beitrag zur Assimilation des Nitrats. Jahrb. f. wiss. Bot. **73,** 633 (1930). — Michaelis, L., Die Wasserstoffionenkonzentration. Berlin (1922). — Ders., Die Permeabilität von Membranen. Naturwiss. **14,** 33 (1926). — Naftel, J. A. F., The absorption of ammonium and nitrate nitrogen by various plants at different stages of growth. J. Amer. Soc. Agron. **23,** 142 (1931). — Osterhout, W. J., Is living protoplasma permeable to ions? J. gen. Physiol. **8,** 131 (1925). — Ders., The accumulation of electrolytes. Ebenda **14,** 285 (1931). — Pantanelli, E., Über Ionenaufnahme. Protoplasma **7,** 129 (1929). — Pirschle, K., Nitrate und Ammonsalze als Stickstoffquelle für höhere Pflanzen bei konstanter Wasserstoffionenkonzentration. Planta **9,** 84 (1930). — Ders. u. Mengdehl, H., Ionenaufnahme aus Salzlösungen durch die höhere Pflanze. Jahrb. f. wiss. Bot. **74,** 297 (1931). — Prianischnikow, D. N., Ammoniak, Nitrat und Nitrit als Stickstoffquelle für höhere Pflanzen. Ergebn. Biol. I, 407 (1926). — Ders., Über die äußeren und inneren Bedingungen der Ausnutzung des Ammoniakstickstoffes durch die Pflanze. Z. Pflanzenern., Düngung u. Bodenkunde, **A. 30,** 38 (1933) und **A. 33,** 134 (1934). — Purjewitsch, K., Physiologische Untersuchungen über Pflanzenatmung. Jahrb. f. wiss. Bot. **35,** 573 (1900). — Raciborski, M., Über die Assimilation der Stickstoffverbindungen durch Pilze. Bull. de l'acad. Sci. Kracovic (1906). — Rennerfeld, E., Untersuchungen über die Salzaufnahme bei Aspergillus niger. Planta **22,** 221 (1934). — Ribbert, A., Beiträge zur Frage nach der Wirkung der Ammoniumsalze in Abhängigkeit von der Wasserstoffionenkonzentration. Planta **12,** 603 (1931). — Rippel, K., Quantitative Untersuchungen über die Abhängigkeit der Stickstoffassimilation von der Wasserstoffionenkonzentration bei einigen Pilzen. Arch. Mikrobiol. **2,** 72 (1931). — Robbins, W. J., Isoelectric points for the mycelium of fungi. J. gen. Physiol. **6,** 259 (1924). — Rossi, G., Sulle proprietá riducenti dell'Aspergillus niger. Biochem. Terap. Sper. **16,** 96 (1929). — Ruhland, W., Yamaha, G. u. Ullrich, H., Über den Durchtritt von Elektrolyten mit organischem Anion und einwertigem Kation in die Zellen von Beggiatoa mirabilis nebst allgemeinen Bemerkungen. Planta **18,** 338 (1933). — Sakamura, T., Die Resorption des Ammon- und Nitratstickstoffs durch Aspergillus oryzae. Ebenda **11,** 765 (1930). — Ders., Ammonio- und Nitratophilie bei Aspergillus oryzae im besonderen Zusammenhang mit Schwermetallen. J. Fac. Sci. Hokkaido, Imp. Univ. **4,** series V, 2 (1935). — Ders. u. Kanamori, H., Über die Wirkung der Essigsäure, des Ammoniaks und ihrer Salze auf das Protoplasma des Wurzelhaares. Ebenda **4,** series V, 2 (1935). — Stahl, A. L. u. Shive, J. W., Studies on nitrogen

absorption from culture solutions. Soil. Sci. **35,** 375, 409 (1933). — Stern, K., Pflanzenthermodynamik. Berlin (1933). — Tamiya, H., Studien über die Stoffwechselphysiologie von Aspergillus oryzae I. Acta Phytochim. **3,** 51 (1927). — Ders., Desgleichen. Ebenda **4,** 77 (1928/29). — Theron, J. J., Influence of reaction on interrelations between the plant and its culturemedium. Univ. California Pub. Agr. Sci. **4,** 413 (1934). — Tiedjens, V. A., Factors affecting assimilation of ammonium and nitrate nitrogen, particularly in tomato and appel. Plant Physiol. **9,** 31 (1934). — Ders. u. Robbins, W. R., The use of ammonia and nitrate nitrogen by certain crop plants. New-Jersey Agr. Exp. Sta. Bull. 526 (1931). — Tokudo, S., The action of nitrate and ammoniumsalts on some plants. Bot. Mag. Tokio **42,** 37 (1928). — Tottingham, W. E. u. Lease, E. J., Science **1934** II, 615. Zit. nach Pirschle, Fortschr. d. Bot. **5,** 189 (1936). — Urbach, C., Die stufenphotometrische Mikroanalyse des Trink- und Nutzwassers. Mikrochemie **10,** 483 (1931). — Ders., Desgleichen. Mikrochemie **11,** 37 (1932). — Ders., Stufenphotometrische Absorptionsmessungen in der med. Chemie. Wien (1932) (2). — Urhan, O., Beiträge zur Kenntnis der Stickstoffassimilation von Chlorella und Scenedesmus. Jahrb. f. wiss. Bot. **75,** 1 (1932). — Ullrich, H., Über den Anionendurchtritt bei Valonia sowie dessen Beziehungen zum Zellbau. Planta **23,** 146 (1935). — Warburg, O. u. Negelein, E., Über die Reduktion der Salpetersäure bei grünen Zellen (Chlorella pyrenoidea). Biochem. Z. **110,** 66 (1920). — Yamaguchi, S., Comparative studies on the water, sand, and soil cultures of rice-plant, with special reference to the nitrogen source and hydrogen ion concentration. J. Fac. Sci. **4,** series V, No. 1 (1935). — Yamagata, S., Über den Einfluß der Stickstoffquelle auf den Gaswechsel des Schimmelpilzes. Beiträge zur Physiologie der Nitratassimilation I. Acta Phytochim. **8,** 117 (1934).

Über die Farbstoff- und Nitrataufnahme bei Aspergillus niger.

Von **Erwin Bünning.**

(Aus dem Botanischen Institut der Universität Königsberg i. Pr.)

I. Einleitung.

In der vorhergehenden Arbeit von Frl. Itzerott wurde den Grundlagen der Abhängigkeit der Assimilation von Ammon- und Nitratstickstoff von der Wasserstoffionenkonzentration nachgegangen. Aus jener Arbeit geht hervor, daß sich diese Abhängigkeit, also die Förderung der Nitratassimilation durch hohe, die Förderung der Assimilation von Ammonstickstoff durch niedrige Wasserstoffionenkonzentration nicht schon durch die Tatsache verständlich machen läßt, daß die Salzaufnahme eine Molekülaufnahme ist, also der Ammonstickstoff nicht als $NH_4^{\cdot}$, sondern als NH_3 bzw. NH_4OH, der Nitratstickstoff als HNO_3 in die Zellen eindringt. Dieser (an sich zutreffende Hinweis) genügt für die Erklärung der genannten Gesetzmäßigkeit nicht; denn es ist zwar richtig, daß die Zahl der undissoziierten NH_4OH bzw. HNO_3-Moleküle von der Wasserstoffionenkonzentration abhängt (abnehmende Wasserstoffionenkonzentration bedingt eine Zunahme der NH_4OH-Moleküle, zunehmende Wasserstoffionenkonzentration eine Zunahme der HNO_3-Moleküle), aber die pH-Abhängigkeit der Assimilation von Ammon- und Nitratstickstoff geht, wie in Itzerotts Arbeit gezeigt wird, keineswegs den theoretischen Dissoziationskurven einigermaßen parallel.

Weiter ließ sich zeigen, daß die pH-Abhängigkeit der Nitratassimilation nicht etwa auf einer pH-Abhängigkeit der Nitratreduktion beruht. — Endlich wurde noch die Frage erörtert, ob es sich nicht doch um die pH-Abhängigkeit einer Ionenaufnahme handeln könne und hierbei, entsprechend den Vorstellungen mehrerer Autoren, dem isoelektrischen Punkt der Kolloide in der Zelloberfläche eine Rolle zufalle. Man glaubte ja oft, daß (ganz allgemein) die bevorzugte Anionenaufnahme im Gebiet saurer Reaktion und die bevorzugte Kationenaufnahme im Gebiet weniger saurer oder alkalischer Reaktion damit im Zusammenhang stehen könne, daß die Plasmaoberfläche in jenem Fall positiv, in diesem negativ geladen ist. Eine solche Bevorzugung der Anionen bzw. Kationen ist in der Tat nicht etwa nur für NO_3' und $NH_4^{\cdot}$ bekannt, sondern auch für viele andere Stoffe, namentlich für Farbstoffe betont worden. Basische Farbstoffe, also solche, bei denen das Kation gefärbt ist, werden vorzugsweise bei alkalischer oder schwach saurer Reaktion aufgenommen, saure Farbstoffe bei stark saurer Reaktion.

Gegen die Anwendung dieser Theorie der umladbaren Grenzschichten für die Erklärung der elektiven Anionen- oder Kationenaufnahme in die Zelle lassen sich aber erhebliche, z. T. schon in Itzerotts

Arbeit erörterte Bedenken vorbringen. Einmal müßte man annehmen, daß die Salzaufnahme eine Ionenaufnahme ist, während bekanntlich viele Tatsachen für die Ansicht sprechen, daß sowohl die anorganischen Salze, als auch die Farbstoffe als Moleküle oder doch als Ionenpaare, also jedenfalls in elektroneutraler Form aufgenommen werden. Außerdem sind für die Annahme eines Zusammenhanges zwischen dem Ladungssinn der Plasmaoberfläche und der elektiven Permeabilität für Anionen oder Kationen nur einmal sorgfältig ausgeführte Experimente veröffentlicht worden, nämlich von Mond auf Grund seiner Studien an roten Blutkörperchen. Aber selbst bei diesem Objekt haben genauere Nachuntersuchungen von Davson und Danielli kürzlich ergeben, daß eine Umkehr der normalen elektiven Anionenpermeabilität in eine (bei alkalischer Reaktion) elektive Kationenpermeabilität nicht besteht. Ich halte es auch für unwahrscheinlich, daß die Zellen eine Umkehr des Ladungssinnes ihrer Plasma- und Plasmagrenzschicht-Bestandteile ohne Schädigung ertragen können. Bevor wir annehmen, daß die Zelle derart tiefgreifende kolloidchemische Umwandlungen ohne Beeinträchtigung ihrer Funktionsfähigkeit übersteht, sollten wir prüfen, ob sich die oben erwähnten Tatsachen nicht anders erklären lassen, zumal doch viele Befunde dafür sprechen, daß das Plasma gut gepuffert ist und hierdurch, sowie durch regulatorische Stoffwechselvorgänge zu starke Schwankungen der Wasserstoffionenkonzentration im Plasma vermieden werden.

II. Farbstoffaufnahme.

Die Farbstoffversuche bestätigen das, was auf Grund der bereits bekannten Tatsachen zu erwarten war: saure Farbstoffe wurden bei stark saurer Reaktion aufgenommen, basische Farbstoffe bei schwach saurer, neutraler oder alkalischer Reaktion. Der Umschlagspunkt der bevorzugten Aufnahme saurer zur bevorzugten Aufnahme basischer Farbstoffe liegt zwischen pH 2,5 und 3,0; also in dem gleichen Gebiet, in dem bei unserem Objekt die Nitrataufnahme beginnt. (Zu den Versuchen wurde der gleiche Stamm von *Aspergillus niger* benutzt, mit dem ich schon früher gearbeitet hatte, und der auch für Frl. Itzerotts Untersuchungen diente.) Die Aufnahme des sauren Farbstoffs scheint demnach an die gleichen Faktoren gebunden zu sein wie die Nitrataufnahme.

Die Versuche wurden so ausgeführt, daß das Myzel aus der Nährlösung entnommen und kleine Stückchen davon in die mit den Farblösungen gefüllten Glasschälchen übertragen wurden. Das Alter des Myzels hatte (geprüft wurden 3—9 Tage alte Kulturen) keinen Einfluß

auf den Erfolg des Versuchs; auch war es belanglos, ob sich die Pilze vorher in einer mehr sauren oder in einer mehr alkalischen Nährlösung befunden hatten. Trotz dieser Feststellungen wurden für die Versuche nur Myzelien benutzt, die 6—8 Tage alt und bei 20° auf einer NH_4NO_3-haltigen Nährlösung mit einem ursprünglichen pH-Wert von 4,8—4,9 gewachsen waren. Der pH-Wert der Nährlösung betrug an den Versuchstagen (das Myzel war dann wegen der relativ niedrigen Temperatur noch als jung zu bezeichnen) zwischen 2,5 und 3,0, war also infolge der bevorzugten Aufnahme von Ammonstickstoff schon beträchtlich saurer geworden. (Die Nährlösung enthielt 5% Glukose, 0,27% KH_2PO_4, 0,2% $MgSO_4 \cdot 7\ H_2O$, 0,4% NH_4NO_3 und etwas $FeCl_3$.)

Es hatte auf die Versuchsergebnisse auch keinen deutlichen Einfluß, durch welche Zusätze den Farblösungen die gewünschten pH-Werte erteilt wurden. Ich benutzte nach einigen Vorversuchen mit Natriumazetat-Essigsäuregemischen, sowie mit Phosphatgemischen, denen eventuell noch organische Säuren oder Phosphorsäure zugesetzt waren, immer Lösungen, denen der gewünschte pH-Wert durch Gemische von primärem und sekundärem Kaliumphosphat, denen nötigenfalls noch Zitronensäure, Oxalsäure oder (zur Erreichung sehr alkalischer Reaktion) K_3PO_4 zugesetzt wurde. Diese Lösungen entsprachen hinsichtlich der den pH-Wert bestimmenden Bestandteile weitgehend den normalen Kulturlösungen. Nur bei mehrtägigen Färbungsversuchen wurden den Farblösungen außerdem die anderen in den Nährlösungen enthaltenen Salze zugesetzt. Die Farbstoffkonzentration war bei Versuchen mit basischen Farbstoffen stets kleiner als 0,01%ig (gewöhnlich 0,005%ig), bei den sauren Farbstoffen wählte ich Konzentrationen bis zu 0,1%, erzielte aber auch mit 0,005—0,01%igen zumeist noch gute Resultate. Ich will die Ergebnisse durch die Wiedergabe einiger der Versuche kurz beschreiben.

a) Basische Farbstoffe. Verwendet wurden Neutralrot und Methylenblau. Beispiel: 0,01%ige Lösung von Methylenblau; den nach verschieden langem Aufenthalt in der Lösung erzielten Färbungsgrad zeigt Tabelle 1.

Tabelle 1.

Methylenblau. — keine Färbung, +, ++, +++ verschiedene Grade der Färbung.

Zeit der Einwirkung	pH der Farblösung								
	1,9	2,3	2,7	3,1	3,5	4,0	5,5	7,0	8,5
¼ Stunde	—	—	—	—	+	+++	+++	+++	+++
½ Stunde	—	—	—	+	++	+++	+++	+++	+++
5 Stunden	—	—	—	++	+++	+++	+++	+++	+++

Bei den Versuchen mit Neutralrot wurde ganz das gleiche Resultat erzielt wie bei denen mit Methylenblau. Methylenblau wurde zumeist gleichmäßig im Zellsaft gespeichert, der sich dabei tief blau färbte; Neutralrot bedingte, namentlich nach längerer Einwirkung in nicht zu verdünnten Lösungen (z. B. in 0,01%iger Lösung nach einer Stunde) die auch von anderen Objekten bekannte Tröpfchenspeicherung im Zellsaft, d. h. zunächst wurde der Zellsaft ebenso wie bei der Einwirkung von Methylenblau diffus gefärbt, nachher aber bildeten sich dunkelrote Tropfen, die allein den Farbstoff enthielten.

Auffallend ist, daß im Übergangsgebiet (etwa zwischen pH 2,5 und 3,0) entweder eine normal intensive Speicherung des Neutralrots und Methylenblaus erfolgte oder aber der Zellsaft ganz farblos blieb, dabei können sogar von den Vakuolen ein und derselben Zelle einige die überaus intensive, andere gar keine Farbstoffspeicherung zeigen. Ich will noch bemerken, daß sich alle diese Angaben nur auf die gewöhnlichen Hyphen beziehen. Die oberen Teile der Konidienträger (auch wenn sie noch keine Köpfchen ausgebildet hatten) sowie die Köpfchen färbten sich auch dann noch ziemlich stark mit Neutralrot und Methylenblau, wenn der pH-Wert zwischen 2,0 und 3,0 lag. Endlich sei betont, daß die Hyphen, die sich nicht in wenigen Stunden gefärbt hatten, auch im Laufe mehrerer Tage oder einer Woche (trotz guten Wachstums in den Farblösungen) keinen Farbstoff speicherten; vielmehr verschwand die Färbung bei längerer Versuchsdauer sogar wieder in den Zellen, in denen sie zunächst sehr intensiv gewesen war. Übrigens bleiben auch unter den für die Anfärbung günstigen pH-Bedingungen viele Hyphen ungefärbt.

b) Saure Farbstoffe. Benutzt wurden Cyanol, Methylorange, Orange G, Lichtgrün und Fuchsin S. Die drei letztgenannten erwiesen sich als besonders geeignet; im Prinzip aber stimmten alle in ihrem Verhalten überein. Beispiel: Lichtgrün, 0,01%ige Lösung. Tabelle 2 enthält die Ergebnisse (zur Erläuterung vgl. Tab. 1).

Tabelle 2. Lichtgrün.

Zeit der Einwirkung	pH der Farblösung							
	1,9	2,3	2,7	3,1	3,5	4,0	6,5	8,5
¾ Stunden	+++	+++	++	–	–	–	–	–
2 Stunden	+++	+++	+++	+	–	–	–	–

Auch bei den sauren Farbstoffen erwies sich die mehrtägige Ausdehnung eines Versuchs wieder als völlig zwecklos; niemals trat dabei eine Verstärkung der Färbung, sondern immer nur deren Rückgang und die völlige Entfärbung ein.

Unsere Resultate lassen sich, wie schon erwähnt, durchaus mit den an anderen Pflanzen gewonnenen vereinbaren. In der Deutung der pH-Abhängigkeit der Farbstoffaufnahme herrscht aber bisher keine Einigkeit.

Die Nichtaufnahme saurer Farbstoffe unter normalen Bedingungen (d. h. bei neutraler oder schwach saurer Reaktion) wurde bekanntlich als Argument gegen Ruhlands Ultrafiltertheorie der Permeabilität benutzt, während Ruhland nur eine geringe Fähigkeit der Zellen, die sauren Farbstoffe zu speichern annahm. Nach Ruhland dringen die sauren Farbstoffe (wenn ihre Moleküle nicht zu groß sind) zumeist etwa bis zum Konzentrationsgleichgewicht in die Zellen ein. Jedenfalls werden sie nicht so schnell und intensiv gespeichert wie die basischen Farbstoffe. Hiergegen hat bekanntlich Collander den Einwand erhoben, daß (nach seinen Versuchen) die sauren Farbstoffe zumeist nicht einmal bis zum Konzentrationsgleichgewicht mit der Umgebung von den Zellen aufgenommen werden. Man hat daher in der Folgezeit gewöhnlich angenommen, die unterschiedliche Aufnahme saurer und basischer Farbstoffe beruhe auf ihrer verschiedenen Lipoidlöslichkeit. Vom Standpunkt der Lipoidtheorie läßt sich, wie es scheint, auch die Rolle der Wasserstoffionenkonzentration verständlich machen. Overton hat darauf hingewiesen, daß sich die Lipoidlöslichkeit der sauren Farbstoffe durch Säurezusatz, die der basischen Farbstoffe durch Laugenzusatz steigern läßt und er erklärt dieses Ergebnis durch die Bildung freier Farbsäure bzw. freier Farbbase, die beide lipoidlöslicher sind als die Farbsalze.

Ferner hat man, wie wir schon in der Einleitung sagten, auch bei der Erklärung der Farbstoffaufnahme auf die Rolle des elektrischen Ladungssinnes der Plasmaoberfläche hingewiesen (vgl. Höber und Nast).

Beide Auffassungen sind nicht unwidersprochen geblieben und wir wollen gleich für unser Objekt zeigen, daß sie hier bestimmt nicht den Tatsachen entsprechen, daß es sich vielmehr bei *Aspergillus niger* in Übereinstimmung mit der Auffassung Ruhlands gar nicht um ein Problem der verschiedenen Permeabilität, sondern der verschiedenen Speicherungsfähigkeit handelt. Wenn man die gefärbten Myzelstücke aus den Farblösungen in Wasser bzw. in Nährlösungen abgestufter Wasserstoffionenkonzentration ohne Farbstoff überträgt, so findet man die allgemeine Gültigkeit der Regel, daß der Farbstoff nur bei den pH-Werten in den Zellen bleibt, bei denen er auch in sie eindringt, dann aber bleibt er viele Stunden in ihnen, während er sonst in ¼ oder ½ Stunde oder noch früher wieder vollständig austritt.

Ich bringe als Beispiel zunächst einen Versuch mit Neutralrot; gefärbt wurde bei pH 5,5 mit einer 0,01%igen Lösung; nachdem die

Hyphen 2 Stunden in dieser Farblösung gelegen hatten, wurden sie in farbstoffreie Lösungen abgestufter pH-Werte übertragen und die Färbung nach ½, 3 und 6 Stunden geprüft. Tabelle 3 gibt das Resultat wieder.

Tabelle 3.

Entfärbung der in Neutralrot gefärbten Hyphen nach Übertragung in farbstoffreie Lösungen verschiedener Azidität (– entfärbt, + noch gefärbt).

Zeit des Entfärbungsversuchs	pH							
	1,9	2,3	2,7	3,1	3,5	4,5	6,0	7,0
0 Stunden	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
½ Stunde	–	–	–	++	+++	+++	+++	+++
3 Stunden	–	–	–	+	+++	+++	+++	+++
6 Stunden	–	–	–	–	++	++	++	++

Dieser Farbstoffentzug war in keinem Fall durch ein Absterben der Zellen bedingt. Man kann die Hyphen auch, nachdem sie in stark saurer Lösung entfärbt worden sind, durch den Rücktransport in die weniger saure Lösung sofort wieder mit Neutralrot oder Methylenblau (in dem sich die Hyphen auch hinsichtlich der Entfärbung genau so verhalten wie in Neutralrot) anfärben. Diesen Wechsel habe ich fünffach wiederholt (5mal entfärbt und 5mal neu gefärbt) ohne eine Schädigung der Zellen feststellen zu können. Ich weise darauf hin, daß auch Strugger bei Wurzelhaaren von *Trianea bogotensis* eine solche reversible Entfärbung mit Neutralrot gefärbter Zellen bei saurer Reaktion des Milieus beobachtet hat. Bei seinem Objekt tritt der Farbstoff aber während der Entfärbung der Vakuole nicht in die umgebende Lösung, sondern wird in der Wand gespeichert und kann von hier aus bei erneuter Alkalisierung wieder in die Vakuole übertreten.

Entsprechend umgekehrt verhalten sich die Zellen bei der Färbung mit sauren Farbstoffen. Beispiel: Gefärbt wurde bei pH 2,2 mit einer 0,05%igen Lösung von Lichtgrün; nach 2stündigem Aufenthalt in der Lösung wurden die Hyphen in farbstoffreie Lösungen abgestufter pH-Werte übertragen und die Färbung nach ½ und 3 Stunden geprüft (Tabelle 4).

Tabelle 4.

Entfärbung der in Lichtgrün gefärbten Hyphen nach Übertragung in farbstoffreie Lösungen verschiedener Azidität.

Zeit des Entfärbungsversuchs	pH						
	1,9	2,4	2,7	3,1	3,5	5,0	7,0
0 Stunden	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
½ Stunde	+++	+++	+++	+	–	–	–
3 Stunden	+++	+++	++	+	–	–	–

Unsere Beobachtungen zeigen also, daß für den Erfolg der Färbung nicht die Permeabilität, sei diese nun mehr durch die Lipoidnatur oder den elektrischen Ladungssinn der Plasmaoberfläche bestimmt, entscheidend sein kann. Saure und basische Farbstoffe können unabhängig von der Wasserstoffionenkonzentration der umgebenden Lösung in ausreichendem Maße durch die Plasmagrenzschichten permeieren. Damit soll nicht gesagt werden, die Lipoidlöslichkeit sei für die Höhe der Permeabilität belanglos. Ich bin sogar davon überzeugt, daß sich die Permeabilität der sauren und basischen Farbstoffe entsprechend der oben dargelegten Ansicht Overtons mit der Wasserstoffionenkonzentration ändert, aber für den Grad der erzielten Färbung ist nach unseren Beobachtungen das von der Wasserstoffionenkonzentration abhängige Speicherungsvermögen wichtiger.

Wir müssen nun vor allem noch berücksichtigen, daß der Austritt saurer Farbstoffe in schwach saurer (oder alkalischer) und der Austritt basischer Farbstoffe in stark saurer Lösung ein vollständiger ist, er führt nicht etwa nur bis zur Konzentrationsgleichheit mit der umgebenden Lösung. Um dieses Resultat zu sichern, habe ich noch Versuche ausgeführt, bei denen nicht mit ungefärbten, sondern mit farbstoffhaltigen Lösungen entsprechender pH-Werte entfärbt wurde. Beispielsweise konnten die mit Neutralrot gefärbten Zellen durch Übertragung in eine Neutralrotlösung vom pH-Wert 2,3 innerhalb ¼ Stunde vollständig entfärbt werden; mit Lichtgrün gefärbte Zellen in der gleichen Zeit durch Übertragung in eine Lichtgrünlösung vom pH-Wert 5,0. Die mikroskopische Betrachtung zeigte, daß die Hyphen nach den angegebenen Zeiten (sowohl bei den Neutralrot- als auch bei den Lichtgrün-Versuchen) ganz hell werden und noch wesentlich heller erscheinen als eine unter das Deckglas gebrachte Farblösung, die nur $^1/_5$ so konzentriert war wie die, in der der Entfärbungsversuch vorgenommen worden war. Der Farbstoff wird also zum mindesten soweit aus den Zellen verdrängt, daß seine Konzentration innerhalb der Zelle weniger als den fünften Teil der Außenkonzentration beträgt.

Diese Beobachtungen legen die schon früher von mehreren Autoren geäußerte Ansicht nahe, daß die Farbstoffspeicherung eine Adsorption an Zellsaftkolloide darstellt; die Entfärbung durch Lösungen ungeeigneter Wasserstoffionenkonzentration wäre als negative Adsorption zu deuten. Zwingend ist diese Konsequenz auf Grund der mitgeteilten Versuche noch nicht; aber wir wollen sie zunächst ziehen und weiter prüfen. Natürlich wird dabei vorausgesetzt, daß im Zellsaft amphotere

Kolloide vorhanden sind; diese Ansicht wurde schon früher von Herzfeld und Klinger vertreten und erscheint gegenwärtig auf Grund der Viskositätsmessungen (Pekarek) als durchaus berechtigt. Daß auch speziell bei unserem Objekt Kolloide im Zellsaft sind, wird durch die Möglichkeit des Auftretens von Tröpfchen im Zellsaft (vgl. die Neutralrotversuche), also durch das Eintreten kolloider Entmischungen, deutlich. (Diese Entmischungen wären, da sie, wie noch näher begründet werden soll, als Ausfällungen mit einem flüssigen Ausgeflockten anzusehen sind, als „Koazervationen" zu bezeichnen.) Weiter würde unsere Ansicht zur Folge haben, daß die Speicherungsfähigkeit nicht nur durch H- und OH-Ionen beeinflußt wird, sondern auch durch andere Ionen, die die Ladung der Teilchen beeinflussen können. Szüsc hat schon vor längerer Zeit gefunden, daß tatsächlich die Aufnahme basischer Farbstoffe durch mehrwertige Kationen, z. B. durch $Al^{\cdot\cdot\cdot}$ gehemmt wird, und er hat diese Beobachtung durch die Annahme einer elektiven Adsorptionsverdrängung der gleichsinnig geladenen Ionen gedeutet. Auch die Versuche von Bethe und Rhode zur Begründung der „Reaktionstheorie" der Vitalfärbung sprechen in dieser Richtung, nur daß es eben für die Adsorptionskraft nicht nur auf die H- und OH-Ionen ankommt.

Collander fand, daß, der Erwartung entsprechend, die mehrwertigen Kationen die Aufnahme saurer Farbstoffe nicht so wie die der basischen hemmen, sondern sogar etwas fördern. Collander selber stimmt allerdings der Adsorptionstheorie der Farbstoffspeicherung nicht zu.

Nun hat man später oft angenommen, die Hemmung der Aufnahme basischer Farbstoffe durch Aluminium- und Kalziumsalze beruhe auf der durch $Al^{\cdot\cdot\cdot}$ und $Ca^{\cdot\cdot}$ bedingten Permeabilitätserniedrigung. Aber für Aspergillus läßt sich zeigen, daß diese Deutung nicht richtig ist. Auch bei meinem Objekt zeigte sich eine überaus starke Hemmung der Aufnahme von Neutralrot und Methylenblau durch $Ca^{\cdot\cdot}$ und $Al^{\cdot\cdot\cdot}$. Beispiel: Neutralrot, 0,01%ige Lösung, Zusatz von KCl, $CaCl_2$ oder $AlCl_3$, so daß 0,02 mol Lösungen entstehen. Zusatz von Kaliumphosphaten, so daß der pH-Wert in allen Lösungen 7,0 beträgt. Nach 30 Minuten ist bei der Kontrolle (ohne Zusatz eines der drei Chloride) wie sonst starke Färbung eingetreten und zwar zumeist Tröpfchenspeicherung. Auch in der KCl-haltigen Lösung war eine starke Färbung zu beobachten, ob sie schwächer war als in der Kontrolle, ließ sich nicht mit Sicherheit entscheiden. In den $Ca^{\cdot\cdot}$ und $Al^{\cdot\cdot\cdot}$ enthaltenden Lösungen war überhaupt keine Färbung feststellbar. — Ferner fand ich aber, und das zeigt, daß jene Hemmung nicht auf einer verminderten Permeabilität beruhen kann, daß sich gutgefärbte Hyphen durch Zusatz von $Ca^{\cdot\cdot}$ oder

$Al^{\cdot\cdot\cdot}$ sehr schnell wieder entfärben lassen. Wurden die Hyphen in 0,01%igen Lösungen von Neutralrot oder Methylenblau 2 Stunden gefärbt (pH 5,0) und dann zu der Farbstofflösung $AlCl_3$ oder $CaCl_2$ hinzugesetzt, so daß 0,02 mol Lösungen dieser Salze entstanden, so trat innerhalb von 5 Minuten oder noch erheblich schneller eine völlige Entfärbung der Hyphen ein. Wenn die oft vertretene Ansicht richtig wäre, daß $Ca^{\cdot\cdot}$ und $Al^{\cdot\cdot\cdot}$ die Färbung mit basischen Farbstoffen hemmen, weil sie die Permeabilität vermindern, dann müßte man gerade (entgegengesetzt zu den mitgeteilten Tatsachen) erwarten, daß sie auch die Entfärbung hemmen.

Ich möchte an dieser Stelle bemerken, daß ich auch für die anderen Objekte, bei denen man glaubte, eine Veränderung der Permeabilität für basische Farbstoffe unter dem Einfluß von Elektrolyten feststellen zu können, auf Grund eigener Versuche zu einer anderen Ansicht gelangt bin. Bekannt ist z. B. der in Brauners „Pflanzenphysiologischem Praktikum" angegebene Versuch mit *Spirogyra*: Die Zellen färben sich in Methylenblau sehr rasch und stark, wird der Farblösung aber KCl, $CaCl_2$ oder $AlCl_3$ zugesetzt, so erfolgt nur eine geringe oder (bei Gegenwart von $AlCl_3$) überhaupt keine Färbung. Für die Hemmwirkung gilt die Reihe $K^{\cdot} < Ca^{\cdot\cdot} < Al^{\cdot\cdot\cdot}$, und eben diese Hemmung hat man als Folge einer Permeabilitätverminderung durch die genannten Ionen (vor allem durch $Ca^{\cdot\cdot}$ und $Al^{\cdot\cdot\cdot}$) gedeutet. Diese Versuche habe auch ich oft mit vollem Erfolg ausgeführt. Man kann aber zeigen, daß es sich bei der Hemmung der Anfärbung gar nicht um eine Folge verminderter Permeabilität handelt. Ich färbte *Spirogyra*fäden in wässriger Methylenblaulösung (0,01%); nach ½ Stunde (die Zellen waren dann alle stark gefärbt) wurde zur Methylenblaulösung soviel $CaCl_2$ oder $AlCl_3$ gegeben, daß eine etwa 0,02 molare Lösung entstand. Der Erfolg war, daß sich die Zellen wenige Sekunden nach diesen Zusätzen völlig entfärbten. Der Farbstoff kann also auch bei der Gegenwart von $CaCl_2$ oder $AlCl_3$ ausgezeichnet permeieren; und daß er unter dem Einfluß der genannten Salze (und noch dazu bei Gegenwart von Methylenblau in der umgebenden Lösung) austritt, zeigt zugleich, daß $CaCl_2$ und $AlCl_3$ nur die Fähigkeit des Zellsaftes, Methylenblau zu speichern, beeinträchtigen. Der Farbstoff tritt übrigens nicht nur bis zur Erreichung gleicher Farbtiefe im Zellsaft und der umgebenden Lösung aus, sondern die Zellen entfärben sich vollständig. Wir haben es also mit der gleichen Erscheinung zu tun wie bei *Aspergillus niger*.

Auch Czajas Deutung für die Hemmung der Aufnahme basischer Farbstoffe durch Ca- und Al-Salze kann nicht richtig sein. Czaja meint

nämlich, die Wirkung dieser Ionen beruhe auf einer Absättigung der für den Stoffdurchtritt wichtigen Hydroxylionen in den Membranporen. Aber unsere Versuche zeigten ja, daß weder die Durchlässigkeit der Zellwände noch die der Plasmamembranen durch $Ca^{\cdot\cdot}$ oder $Al^{\cdot\cdot\cdot}$ wesentlich geändert wird, vielmehr nur das Speicherungsvermögen des Zellsaftes eine Beeinflussung erfährt.

Ein Zusatz von $AlCl_3$ oder von $CaCl_2$ hatte, wie erwartet werden durfte, bei *Aspergillus* einen günstigen Einfluß auf die Färbung mit sauren Farbstoffen. Beispielsweise gelang es, bei pH 3,1 innerhalb von ½ Stunde eine gute Färbung mit Lichtgrün zu erzielen, wenn $AlCl_3$ bis zur Erreichung einer Konzentration von 0,02 mol zugesetzt wurde, während ohne diesen Zusatz keine Färbung erreicht wurde. Niemals konnte (auch das war zu erwarten) der saure Farbstoff so wie der basische durch alleinigen Zusatz von $Al^{\cdot\cdot\cdot}$ oder $Ca^{\cdot\cdot}$ (unter Konstanthaltung der $H^{\cdot}$-Konzentration, bei der gefärbt worden war) aus den Zellen verdrängt werden.

An dieser Stelle möchte ich betonen, daß auf Grund dieser Feststellungen auch eine ganze Reihe anderer Angaben über Permeabilitätsverminderungen unter dem Einfluß von Ca- und Al-Salzen einer Nachprüfung bedürfen. Ich will diese Permeabilitätsänderungen selber nicht bezweifeln, aber ihre Bedeutung ist gegenüber der der adsorptiven Verdrängung sicher oft überschätzt worden. Übrigens hat schon Zondek darauf hingewiesen, daß man die oft beobachtete entgiftende Wirkung von $Ca^{\cdot\cdot}$ gar nicht immer auf eine Permeabilitätsverminderung, also auf ein gehemmtes Eindringen des Giftes zurückführen kann; denn der Ca-Zusatz kann nicht nur den Eintritt der Giftwirkung verhindern, sondern auch die bereits eingetretene Vergiftung wieder rückgängig machen, so z. B. die Giftwirkung von Chloralhydrat und Chinin am Herzen. Zondek weist ebenfalls auf die Möglichkeit einer adsorptiven Verdrängung hin.

Aus unseren Versuchen geht auch hervor, daß die schon in der Einleitung gestreifte Ansicht, nach der sich die bevorzugte Aufnahme basischer und saurer Farbstoffe bei alkalischer bzw. saurer Reaktion aus der pH-Abhängigkeit der elektrischen Ladung der Plasmaoberfläche erklärt, nicht richtig sein kann; denn beide Arten von Farbstoffen können ja die Plasmamembran unabhängig von der Wasserstoffionenkonzentration permeieren. Daher muß auch der mehrfach eingeschlagene Weg, „den IEP" der Zellen durch Färbungsversuche zu ermitteln, als verfehlt angesehen werden. Bei dieser Methode zur Bestimmung des IEP (vgl. z. B. Yamaha 1936) wird bestimmt, bei welchem pH-Wert

die bevorzugte Färbung mit basischen Farbstoffen in eine bevorzugte Färbung mit sauren Farbstoffen übergeht. Nach unseren Ergebnissen ist dieses Verfahren unzulässig. Daß bei seiner Anwendung nicht der IEP der Kolloide gemessen wird, die die Zelloberfläche bilden, geht auch schon aus der in den Versuchen Yamahas selber gelegentlich zutage tretenden Abweichung der durch Kataphoreseversuche ermittelten IEP-Werte von den durch jene Färbungsmethode gefundenen hervor.

Auch die Versuche von Kobs und Robbins (1936) zeigen, daß die pH-Abhängigkeit der Wirkung basischer und saurer Farbstoffe nicht mit der Beeinflussung des Ladungssinnes durch die Wasserstoffionen im Zusammenhang steht. Kobs und Robbins arbeiteten an *Rhizopus nigricans*, *Giberella saubinetii* und *Fusarium oxysporum*. Folgende Farbstoffe wurden benutzt: Eosin (sauer), Rose bengal (sauer) und Dahlia (basisch). Es zeigte sich, wie zu erwarten, daß zunehmende Wasserstoffionenkonzentration die (an der Hemmung des Wachstums gemessene) Giftigkeit der Säurefarbstoffe, abnehmende Wasserstoffionenkonzentration die Giftigkeit der basischen Farbstoffe erhöht. Eine Beziehung zwischen der pH-Abhängigkeit der Giftwirkung und dem (durch frühere Messungen bekannten) IEP besteht nicht. — Wir werden auf diese Versuche noch zurückkommen.

Zusammenfassend können wir sagen, daß für die bevorzugte Resorption von Farbstoffanionen oder -kationen in der Tat der namentlich vom pH-Wert abhängige Ladungssinn eines Kolloids wichtig ist, aber nicht eines Kolloids der Plasmaoberfläche, sondern des Zellsaftes. Es wäre ein verfrühter Schluß, wollte man annehmen, daß der IEP dieses Kolloids zwischen 2,5 und 3,0 liegt; denn die Wasserstoffionenkonzentration des Zellsaftes ändert sich zwar offensichtlich mit der des Mediums, braucht aber wegen der Möglichkeit einer Pufferung und aktiver Regulationen keineswegs mit der des Mediums übereinzustimmen. Diese Frage habe ich noch besonders untersucht, will aber vorher auf die Resorption des Nitrats eingehen.

Hier sei jedoch noch hervorgehoben, daß sich ein Teil unserer Versuche auch erklären läßt, wenn wir die Rolle der Wasserstoffionenkonzentration nicht in der Beeinflussung der elektrischen Ladung von Kolloiden, sondern in der Beeinflussung der Dissoziation der Farbsäuren bzw. Farbbasen sehen. Diese Behauptung scheint den weiter oben mitgeteilten Schlußfolgerungen zu widersprechen. Wir sagten, daß sich die pH-Abhängigkeit der Färbung nicht einfach aus der Abhängigkeit der Farbstoffdissoziation von der $H^{\cdot}$-Konzentration der Farbstofflösung, in die die Zelle übertragen wird, erklären läßt. Diese Konsequenz müssen

wir auch aufrecht erhalten; denn andernfalls dürfte beispielsweise Neutralrot gemäß der pH-Abhängigkeit seiner Dissoziation nur bei pH-Werten über 7,0 aufgenommen werden; jedenfalls aber schon bei pH-Werten, die nur wenig unter 7 liegen, nur noch in ganz verschwindend geringem Maße. Das trifft aber ja nicht zu.

Indessen ist noch zu berücksichtigen, daß es dann, wenn die Farbstoffaufnahme eine Molekülaufnahme ist (also eine Aufnahme freier Farbbase oder freier Farbsäure), für die Möglichkeit und Stärke des Eindringens in die Zelle keineswegs auf das Verhältnis des dissoziierten zum nichtdissoziierten Anteil in der Farblösung ankommt, sondern auf das Verhältnis des Dissoziationsgrades im Innern der Zelle zu dem in der Umgebung. Herrscht im Innern eine andere Wasserstoffionenkonzentration als in der Umgebung, so wird auch der Dissoziationsgrad verschieden sein. Die Farbstoffaufnahme wird dann, je nachdem, ob sich im Innern oder außen mehr freie Farbsäure bzw. freie Farbbase befindet, schon aufhören, bevor im Zellinnern der gleiche Färbungsgrad wie außen erreicht ist, oder aber noch weiter gehen als bis zur Gleichheit der Färbung; denn das für das Eindringen der Farbsäure- oder Farbbasenmoleküle entscheidende thermodynamische Potential entspricht dem Unterschied zwischen der Molekülkonzentration im Innern und im Äußern. An die hier genannte Möglichkeit könnte man namentlich auf Grund der Beobachtungen Irwins an *Nitella* denken. Irwin fand, daß Brillantcresylblau im Bereich von pH 5 bis pH 9 umso stärker in die Zellen eindringt, je höher der pH-Wert ist. Hierbei besteht eine enge Beziehung zur Dissoziation, nämlich eine Parallelität zwischen der Permeation und der vorhandenen Menge undissoziierter Farbstoffmoleküle. Die Exosmose des Farbstoffs dagegen wird durch Verringerung des pH-Werts im Medium gefördert; nach Irwin, weil die ins Medium permeierenden undissoziierten Farbstoffmoleküle dort umso mehr dissozieren, je saurer das Medium ist. Das Konzentrationsgefälle der undissoziierten Farbstoffmoleküle muß also bei hoher $H^{\cdot}$-Konzentration des Mediums größer sein als bei geringer $H^{\cdot}$-Konzentration.

Bezüglich unserer Färbungsversuche an *Aspergillus* können wir nun zunächst darauf hinweisen, daß, wie weiter unten gezeigt wird, nicht die Gleichheit der Wasserstoffionenkonzentration im Zellinnern und im Medium die Bedingung darstellt, bei der im Zellinnern eine gleiche Farbstoffkonzentration erreicht wird wie im Medium; aber andererseits müssen wir einräumen, daß die Dissoziation nicht allein von der Wasserstoffionenkonzentration abhängig ist. Daher müssen wir neben der Rolle, die wir der positiven und negativen Adsorption aus wohl zwingenden

Gründen zuschreiben mußten, auch daran denken, daß dem oben genannten anderen Prinzip, also dem pH-Gefälle zwischen dem Zellinnern und dem Medium, eine Bedeutung zukommt.

Auch für die schon oben besprochenen Versuche von Kobs und Robbins über die pH-Abhängigkeit der Giftwirkung saurer und basischer Farbstoffe ließen sich ähnliche Betrachtungen anstellen. Die genannten Autoren wiesen darauf hin, daß die Kurven, die die pH-Abhängigkeit dieser Farbstoffwirkungen darstellen, ihrer Form nach Dissoziationskurven darstellen. Kobs und Robbins vermuten daher, daß die H-Ionenkonzentration wichtig wird, indem von ihr die Bildung der (giftigen) freien Säure bzw. Base abhängt. Damit soll anscheinend die Vermutung geäußert werden, daß die Giftwirkung dem in der Farblösung erreichten Dissoziationsgrad proportional ist. Aber auch hier ist wohl nicht allein der in der Außenlösung erreichte Dissoziationsgrad wichtig; denn aus diesem folgt noch nichts über die im Zellinnern erreichte Farbstoffkonzentration. Wichtig wird vielmehr die Differenz des Dissoziationsgrades zwischen dem Zellinnern und der Umgebung sein. Der Farbstoff muß dann besonders vergiftend wirken, wenn die Dissoziation innen kleiner ist als außen, weil jetzt das energetische Gefälle so gerichtet ist, daß immer mehr Farbstoff eintreten muß. Diese Bedingung ist aber für basische Farbstoffe erreicht, wenn der pH-Wert außen größer ist als innen, für saure Farbstoffe, wenn er innen größer ist als außen. (Wir sehen dabei von der Beeinflussung des Dissoziationsgrades durch andere Faktoren ab und müssen natürlich außerdem noch die andere Möglichkeit offen lassen, daß für die Giftwirkung die Adsorbierbarkeit an amphotere, durch Änderung der H-Ionenkonzentration umladbare Zellsaftkolloide wichtig ist.)

III. Nitrataufnahme.

Nach den vorstehend beschriebenen Farbstoffversuchen lag die Vermutung nahe, daß für die Resorption von Nitrat ähnliche Gesetzmäßigkeiten gelten wie dort, daß also der Grund für die pH-Abhängigkeit der Nitratresorption in einer Beeinflussung der Adsorption von Nitrat an Zellsaftkolloide liegt. Mit dieser Annahme könnten die in der Einleitung genannten Schwierigkeiten überwunden werden.

Ich verfuhr bei den Versuchen prinzipiell ebenso wie bei den Färbungsversuchen. Die Speicherung von Nitrat in den Zellen wurde qualitativ und halbquantitativ durch Behandlung mit Diphenylamin-Schwefelsäure geprüft. Dazu wurden die Myzelstückchen (immer nur kleine lockere Stücke mit einem Durchmesser von 1—2 mm) aus den betreffenden Lösungen entnommen, 3—4 Minuten in destilliertem Wasser

gewaschen, um die anhaftende und eventuell noch nitrathaltige Flüssigkeit zu entfernen, dann auf einem Objektträger mit Filtrierpapier abgetrocknet und mit einem Tropfen Diphenylamin-Schwefelsäure behandelt. Wenn dieses Verfahren nicht stets ganz eindeutige und immer wieder die gleichen Resultate geliefert hätte, wäre es nicht weiter benutzt worden; aber die Ergebnisse konnten mit unbedingter Sicherheit gewonnen werden. Außerdem wurde zur Kontrolle bei mehreren Versuchen auch der Nitratverbrauch in der Nährlösung gemessen, und zwar kolorimetrisch (Brucinreaktion) mit Hilfe des Pulfrich-Photometers (zur Methodik vgl. Bünning).

Bei den Versuchen zeigte sich zunächst das, was schon auf Grund früherer Analysen der Nährlösung von *Aspergillus*-Kulturen zu erwarten war: In Lösungen von pH-Werten, die unter 3,0 liegen, wird Nitrat im Zellsaft angehäuft, so daß mit Diphenylamin-Schwefelsäure ausnahmslos eine intensive Blaufärbung erzielt werden konnte. Bei Benutzung von nitrathaltigen Lösungen mit pH-Werten über 3,0 war aber nicht die geringste Spur einer Blaufärbung der entnommenen Myzelstückchen beobachtbar. Diese Feststellungen wurden an Myzelien gemacht, die sich in Nährlösungen mit NH_4NO_3 als N-Quelle befanden. Bei Benutzung von Nährlösungen mit KNO_3 wurde die Nitratspeicherung schon bei etwas höheren pH-Werten beobachtet.

Wurden nun die Hyphen, nachdem sie in saurer Lösung (pH<3,0) erhebliche Mengen Nitrat gespeichert hatten, in nitratfreie Lösungen abgestufter pH-Werte übertragen, so trat das Nitrat schnell aus den Zellen aus, wenn diese Lösungen einen pH-Wert über 3,0 hatten; bei saureren Lösungen aber blieb es sehr lange in den Zellen. Beispiel: 2 Stunden in einer Nährlösung mit 1% NH_4NO_3 (Zusammensetzung sonst wie in der Einleitung angegeben), dann 3 Minuten in destilliertem Wasser abgespült und in stickstoffreie Lösungen übertragen. Ergebnis: Tabelle 5.

Tabelle 5.

Nitratentzug durch nitratfreie Lösungen. (+, ++, +++ wenig bzw. viel Nitrat vorhanden, — kein Nitrat mehr nachweisbar.)

Zeit nach der Einwirkung	pH						
	1,8	2,3	2,8	3,3	3,8	5,0	7,0
0 Stunden	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
½ Stunde	+++	+++	++	—	—	—	—

Die Resultate waren nicht anders, wenn nach der Resorption von Nitrat aus der sauren nitrathaltigen Nährlösung nicht in nitratfreie, sondern in andere, Nitrat in gleicher Menge enthaltende Lösungen, die aber auf verschiedene pH-Werte eingestellt waren, übertragen wurde.

Wieder war (trotz der Gegenwart von Nitrat in der Lösung!) nach einer halben Stunde nur in den Myzelstückchen Nitrat nachweisbar, die in Lösungen mit pH-Werten unter 3,0 übertragen worden waren. Offensichtlich wird das Nitrat in den schwächer sauren Lösungen sogar soweit aus den Zellen verdrängt, daß es in ihnen in einer geringeren Konzentration vorliegt als in der umgebenden Lösung. Jedenfalls konnte in kleinen Tröpfchen der Lösung, die bestimmt ein geringeres Volumen hatten als die benutzten Myzelstückchen, mit Diphenylamin-Schwefelsäure noch Nitrat nachgewiesen werden.

Im Prinzip dasselbe wurde durch quantitativ genauere, aber nur in geringerer Anzahl ausgeführten Versuche festgestellt, bei denen (wie oben angegeben) die Nitratkonzentration in der Nährlösung kolorimetrisch bestimmt wurde. Beispiel: In 10 Erlenmeyerkolben kamen je 50 ccm Lösung, enthaltend 1% NH_4NO_3, 1% Glukose, primäres und sekundäres Kaliumphosphat sowie nötigenfalls Zitronensäure. Die drei letztgenannten Substanzen dienten zur Einstellung des pH-Werts, und zwar kamen in 5 der Kolben Lösungen mit dem pH-Wert 2,6, in die übrigen 5 Kolben Lösungen des pH-Werts 6,2. In jeden Kolben kamen Myzelstücke mit einem Frischgewicht von 1,05 bis 1,15 g (das Frischgewicht wurde nach schnellem Abtrocknen mit Filtrierpapier bestimmt). Nach 3 Stunden wurden die Lösungen analysiert und dann gefunden: In den Kolben mit Lösungen vom pH-Wert 6,2 ein Nitratgehalt von 98—101% des ursprünglichen, in den Kolben mit saureren Lösungen ein Nitratgehalt von 94—96% des ursprünglichen. Dann wurde die saurere Lösung durch Zusatz von K_3PO_4 auf einen pH-Wert von 6,2 gebracht, die weniger saure durch Zusatz von Zitronensäure auf pH 2,8. Nach weiteren 2 Stunden wurde gefunden: in der jetzt weniger sauren Lösung wieder eine Zunahme des Nitratgehalts auf 98—100% des ursprünglichen, in der jetzt stärker sauren eine Abnahme des Nitratgehalts auf 94—97% des ursprünglichen.

Hieraus folgt zunächst, daß schon gespeichertes Nitrat durch ungünstige (also geringere) Wasserstoffionenkonzentration wieder aus den Zellen verdrängt werden kann. Ferner folgt allem Anschein nach auch, daß der Nitratgehalt im Innern der Zelle höher werden kann als in der umgebenden Lösung: 1,1 g Myzel haben 5% des Nitrats aus den 50 ccm Lösung entnommen, ohne es, wie die Möglichkeit der Verdrängung zeigt, zu verbrauchen. Das Myzel hat also mehr als das Doppelte von dem aufgenommen, was zur Erreichung der Konzentrationsgleichheit erforderlich gewesen wäre. Das wird bei der Verwendung verdünnterer Lösungen noch deutlicher;

aus 0,1%iger NH_4NO_3-Lösung wurde in 3 Stunden (Versuchsanordnung sonst wie bei dem zuvor beschriebenen Beispiel) soviel Nitrat entnommen, daß auf eine Innenkonzentration geschlossen werden konnte, die 3—4fach so hoch war, wie die der Nährlösung. (Vgl. auch die ähnlichen, aber aus länger dauernden Versuchen gewonnenen Ergebnisse Itzerotts.)

Wir sehen somit, daß Nitrate ebenso wie die untersuchten Farbstoffe sehr wohl bei den verschiedensten pH-Werten der Nährlösung permeieren können, daß sich die bevorzugte Resorption in stark saurer Lösung also nur aus einer stärkeren Speicherung im Zellsaft erklärt.

Ob auch eine Adsorptionsverdrängung des Nitrats durch andere Anionen möglich ist, konnte nicht mit Sicherheit festgestellt werden. Sulfat- und Phosphationen scheinen in dieser Hinsicht wirksam zu sein; jedoch ist der Einfluß nicht so groß, daß er durch die hier benutzten Methoden mit Sicherheit festgestellt werden konnte.

Die mitgeteilten Tatsachen lassen sich, entsprechend unseren Betrachtungen über die Farbstoffaufnahme, zum Teil auch ohne die Annahme einer Adsorption erklären. Wenn die Wasserstoffionenkonzentration im Zellinnern nicht mit der der Umgebung übereinstimmt, so muß der Dissoziationsgrad der HNO_3 innen und außen verschieden sein. (Das gilt auch dann, wenn eine meßbare Menge undissoziierter Moleküle überhaupt nicht vorhanden ist. Vgl. die Arbeit von Itzerott.) Daher kann das thermodynamische Gleichgewicht nicht bei einer Gleichheit der Innen- und Außenkonzentration des Nitrats erreicht werden. Wenn die Wasserstoffionenkonzentration außen höher ist als innen, muß, da die Dissoziation innen jetzt stärker ist, eine immer weitere Diffusion von HNO_3-Molekülen ins Zellinnere stattfinden; denn solange keine Konzentrationsgleichheit der undissoziierten Moleküle besteht, ist ein thermodynamisches Gefälle vorhanden. Umgekehrt muß dann, wenn die Wasserstoffionenkonzentration außen geringer ist als innen, das thermodynamische Gleichgewicht schon bei einer sehr geringen Nitrataufnahme eintreten, da jetzt die Dissoziation im Zellinnern geringer ist.

Man sollte unter dieser Voraussetzung zunächst erwarten, die Nitratresorption und damit die Möglichkeit der Nitratassimilation beginne, sobald die Wasserstoffionenkonzentration in der Nährlösung nur etwas geringer ist als in der Zelle. Tatsächlich beginnt aber die Nitratresorption und -assimilation erst, wenn schon eine ansehnliche Differenz zwischen der Innen- und Außenkonzentration der $H^{\cdot}$ besteht. Wir werden im nächsten Abschnitt sehen, daß bei dem pH-Wert, der nicht überschritten werden darf, wenn Nitrat assimiliert werden soll (nämlich

3,0) der pH-Wert im Zellinnern wesentlich höher, und zwar beträchtlich über 4,0 liegt. Daraus folgt aber noch nicht die Ungültigkeit des oben skizzierten Prinzips der Stoffaufnahme, da für den Dissoziationsgrad nicht nur die Wasserstoffionen wichtig sind. Wie stark die Dissoziation bei den verschiedenen pH-Werten im Zellsaft tatsächlich ist, läßt sich vorläufig nicht errechnen.

Trotzdem kann gezeigt werden, daß uns diese Vorstellung, die dem Gefälle der Dissoziation bzw. des Dissoziationsbestrebens die Hauptrolle zuschreibt, die pH-Abhängigkeit der Nitratassimilation weniger vollständig erklärt als die Annahme einer pH-Abhängigkeit der Adsorption. In jenem Falle würde nämlich eine hohe $H^{\cdot}$-Konzentration des Mediums die Nitratassimilation fördern, indem sie ein Gefälle schafft, bei dem die $H^{\cdot}$-Konzentration außen größer ist als innen, im zweiten Falle dagegen hätte die hohe $H^{\cdot}$-Konzentration des Mediums die Bedeutung, die Wasserstoffionenkonzentration des Zellinnern möglichst hoch werden zu lassen. Daß es in der Tat auf diese zweite Art der Wirkung ankommt, läßt sich nachweisen. Itzerott konnte nämlich schon durch Kulturen in Kaliumnitratnährlösungen zeigen, daß die Nitratassimilation bei höheren pH-Werten der Nährlösung beginnt, sofern durch Abwesenheit von Ammoniak in der Nährlösung für eine möglichst hohe Wasserstoffionenkonzentration des Zellinnern gesorgt wird. Wenn es auf das pH-Gefälle zwischen dem Medium und dem Zellinnern ankäme, müßte umgekehrt erwartet werden, daß die Nitratassimilation in Kaliumnitratnährlösungen erst bei geringerem pH-Wert des Mediums beginnt als in Ammoniumnitratnährlösungen.

Wir können zur Bekräftigung des hier Gesagten noch darauf hinweisen, daß auch höhere Pflanzen Nitrat dann am besten verarbeiten, wenn die Wasserstoffionenkonzentration im Zellinnern hoch ist. Das zeigen sowohl die Versuche von Dittrich als auch die von Dastur und Kalyani.

Im Schlußabschnitt werden wir sehen, daß noch andere Gründe für die hervorragende Rolle einer Adsorption bei der Nitratakkumulierung sprechen.

IV. Die Wasserstoffionenkonzentration des Zellsaftes.

Wir haben gezeigt, daß der Zellsaft Farbstoffanionen und Nitrat nur bei einem pH-Wert des Mediums speichert, der kleiner als 2,5—3,0 ist, daß er aber gefärbte Kationen nur bei einem pH-Wert über 3,0 speichert. Hiermit soll nicht behauptet werden, daß diese Gesetzmäßigkeit für alle Anionen und Kationen gilt, offensichtlich besitzt die Zelle noch andere Möglichkeiten, Ionen zu akkumulieren als durch Adsorption an elektrisch geladene Kolloide. Selbst die Nitrationen werden bei anderen

Pflanzen sicher nicht nur vermöge einer Adsorption gespeichert, sie können ja bei manchen Algen auch in einem offensichtlich kolloidfreien oder kolloidarmen Zellsaft über die Konzentrationsgleichheit hinaus gespeichert werden. Ferner können viele Pflanzen auch dann Nitrat resorbieren, wenn der Zellsaft nur schwach sauer ist. Ob in allen diesen Fällen wirklich eine Nitratspeicherung stattfindet, bei der auch die Konzentration undissoziierter Moleküle im Zellinnern größer wird als im Medium, bei der also wirklich ein Nitrattransport entgegen dem thermodynamischen Gefälle stattfindet, läßt sich noch nicht sicher entscheiden. In manchen Fällen, bei denen diese Leistung mittels der durch Atmungsprozesse gewonnenen Energie vollführt wird, scheint dies aber zuzutreffen (vgl. z. B. Lundegårdh und Burström). Wir können dabei auch durchaus der von Lundegårdh vertretenen Ansicht zustimmen, daß normalerweise die Kationen durch Adsorption aufgenommen werden, die Anionen aber unter Mitwirkung der Atmung. Ich glaube aber, daß dieses Resultat der Untersuchungen von Lundegårdh und Burström nur für den gewöhnlich gegebenen Fall zutrifft, daß der pH-Wert der Zellsaftkolloide größer ist als der ihres IEP; im entgegengesetzten Fall ist vielleicht gerade umgekehrt für die Kationenakkumulierung ein besonderer Energieaufwand erforderlich.

Wenngleich es offensichtlich richtig ist, daß die bevorzugte Adsorption von Anionen oder Kationen im Zellsaft von *Aspergillus* davon abhängt, ob ein Kolloid des Zellsaftes positiv oder negativ geladen ist, ob also der pH des Zellsaftes kleiner oder größer ist als der des IEP dieses Kolloids, darf doch, wie schon betont wurde, nicht angenommen werden, daß der IEP dieses Kolloids zwischen 2,5 und 3,0 liegt. Es kann ja sehr wohl ein Gefälle der Wasserstoffionenkonzentration zwischen dem Zellinnern und dem Medium bestehen.

Ich versuchte nun festzustellen, wie hoch die Wasserstoffionenkonzentration des Zellsaftes beim Aufenthalt der Hyphen in den einzelnen von mir benutzten Lösungen war. Hierfür kam nur die Anwendung von Indikatorfarbstoffen in Frage; wir müssen also (vor allem auch wegen des Kolloidreichtums des Zellsaftes) mit einem vielleicht nicht unbeträchtlichen Fehler rechnen, der entsteht, weil der Dissoziationsgrad (und damit die Farbe) des Indikators im Zellsaft nicht nur durch den pH-Wert bestimmt wird.

Einen gewissen Aufschluß gaben schon die Neutralrotversuche. Waren die verwendeten Lösungen alkalisch oder neutral, so war das im Zellsaft gespeicherte Neutralrot z. T. rot, zum geringeren Teil aber orangerot. Jedoch sind die Zellen wohl immer schon weitgehend ge-

schädigt, wenn der Farbstoff diese Orangefärbung annimmt; man findet dann schon viele tote Zellen; sehr oft grenzen die Zellen mit orangegefärbtem Zellsaft an bereits abgestorbene. Nie wurde der gespeicherte Farbstoff gelb. Wenn der pH-Wert der Lösung über 8,0 lag, starben die Zellen, bevor der Zellsaft diesen hohen pH-Wert erreicht hatte. Ein pH-Wert des Zellsaftes von 7,0—7,5 ist also der höchste, den die Zelle (und sicher auch nur für kurze Zeit) ertragen kann (hiermit soll natürlich nicht behauptet werden, daß die hohe OH'-Konzentration des Zellsaftes unmittelbar für das Absterben verantwortlich zu machen ist, wichtiger ist sicher die gleichzeitige Beeinflussung des Plasmas.) Auch wenn der pH-Wert der umgebenden Lösung 6,5—7,0 betrug, war der Farbstoff in den meisten Zellen rot oder sogar violettrot. Selbst ein vielstündiger Aufenthalt in neutraler Neutralrotlösung änderte diesen Farbton nicht. In dieser Lösung, die ungefähr die wasserstoffionenärmste ist, die *Aspergillus niger* ohne Schädigung erträgt, steigt der pH-Wert des Zellsaftes also wohl kaum über 5,0. War der pH-Wert der Farbstofflösung noch kleiner als 5,0 (zwischen 3,0 und 4,0), so wurde das Neutralrot nie mehr rein rot, sondern nur violettrot gespeichert; der pH-Wert des Zellsaftes war dann also anscheinend kleiner als 5,0.

Über die Änderung der Zellsaftazidität bei der Benutzung noch saurerer Lösungen konnte aus dem Verhalten in Methylorange einiges erschlossen werden. Bis herunter zu einem pH-Wert der Farblösung von 1,8—1,9 war die Färbung des im Zellsaft gespeicherten Methylorange niemals rot, sondern hatte höchstens einen Orangeton, dem ein pH-Wert von mindestens 4,2 entspricht. Erst in noch saureren Lösungen, die vom Pilz nicht mehr ohne Schädigung ertragen werden, sank der pH-Wert des Zellsaftes auf 4,0 oder darunter.

Für die in den vorhergehenden Abschnitten mitgeteilten Versuche darf also im wesentlichen nur mit pH-Schwankungen zwischen 4,2 und 5,0 gerechnet werden; und in diesem Bereich muß demnach auch der vermutete isoelektrische Punkt liegen.

Dann wurde noch versucht, durch Benutzung von Bromphenolblau (0,04%ige Lösung in 20%igem Alkohol) und Bromcresolgrün (gleiche Lösung) zu ermitteln, wie hoch der pH-Wert des Zellsaftes ist, wenn der des Mediums 2,5—3,0 beträgt; diesem Wert wäre eine besondere Bedeutung zugekommen, weil bei ihm der vermutete IEP erreicht wird. Bromphenolblau ergab eine Blaufärbung; Bromcresolgrün Blau- oder Grünfärbung; der gesuchte pH-Wert scheint also etwa bei 4,4 zu liegen. Jedoch darf auf die Versuche mit diesen beiden Farbstoffen kein zu großes Gewicht gelegt werden, da sie auch dann, wenn sie nur

kurze Zeit einwirkten (5—30 Min.) zwar schon eine deutliche Färbung in vielen Zellen ergaben, aber gleichzeitig auch Schädigungen bedingten, die sich im veränderten Aussehen des Protoplasmas äußerten.

Bisher haben wir nur indirekt erschlossen, daß im Zellsaft ein amphoteres Kolloid ist. Für diese Annahme spricht, daß bei einem pH-Wert von 2,5—3,0 im umgebendem Medium (also bei einem pH-Wert von etwa 4,4 des Zellsaftes) die Stabilität des Zellsaftkolloids erheblich vermindert ist; ich beobachtete dann die gleiche „Koazervation", also Tropfenausfällung, die beispielsweise auch, wie wir sahen, unter dem Einfluß von Neutralrot eintritt. Nebenher sei bemerkt, daß auch bei anderen Objekten eine solche Tropfenbildung unter dem Einfluß von Neutralrot bzw. von hoher Azidität bekannt ist; namentlich die Schließzellen der Spaltöffnungen können hier genannt werden (Arends, Beyer, Scarth, Pekarek, Linsbauer). Bei noch höherer Azidität beobachtet man bei *Aspergillus niger*, daß die Entmischung im Zellsaft wieder zurückgeht und es scheint, daß das auch für die Tropfenbildung in den Schließzellen der Spaltöffnungen zutrifft. Auch bei der Einwirkung von $CaCl_2$ und $AlCl_3$ (0,02 mol Lösungen) beobachtet man im *Aspergillus*-Zellsaft solche Entmischungen, deren Deutung als eine durch Entladung bedingte Koazervation scheint mir daher berechtigt zu sein. Übrigens bedingen auch wieder bei den Schließzellen der Spaltöffnungen mehrwertige Kationen eine Tropfenbildung (Arends). — Über die physikalischen Grundlagen solcher durch Ionen bedingter Entladungen und Ladungsumschläge an Koazervaten vergleiche man die Arbeiten von Bungenberg de Jong und seinen Mitarbeitern.

V. Allgemeines.

Nach unseren Studien an *Aspergillus* verdient die vor allem von Pantanelli vertretene Auffassung, daß für die Ionenakkumulierung Adsorptionen an Zellkolloide wichtig sein können, wieder mehr Beachtung. Wenn man aus dem physikalischen Verlauf der Ionenresorption auf die Bedeutung von Adsorptionsvorgängen gestoßen ist, so hat man vielfach in erster Linie an Adsorptionen in den Plasmagrenzschichten gedacht und angenommen, daß durch diese Adsorptionsprozesse in erster Linie das Permeieren erleichtert wird. Nach unseren Ergebnissen ist aber vor allem mit einer Adsorption im Zellsaft zu rechnen; der Permeationsvorgang selber darf als Diffusion betrachtet werden; freilich wird deren Ausmaß erst durch jene Adsorption ermöglicht, weil nur durch sie das Diffusionsgefälle immer wieder hergestellt werden kann.

Daß überhaupt bei der Salzaufnahme Adsorptionsvorgänge beteiligt sind, ist mehrfach aus der Gültigkeit der Adsorptionsisotherme

geschlossen worden, also daraus, daß die Ionen aus verdünnten Lösungen relativ stärker aufgenommen werden als aus konzentrierteren (vgl. v. Wrangell, sowie die Literaturhinweise bei Pirschle in den „Fortschr. d. Botan.", Bd. 1—4).

Wie weit wir es bei der Ionenakkumulierung durch Adsorption wirklich mit einem rein physikalischen Vorgang zu tun haben, soll hier nicht entschieden werden; bekanntlich läßt sich in solchen Fällen „polarer Adsorption", also der Adsorption von Ionen an entgegengesetzt geladene Kolloide, keine scharfe Grenze zwischen physikalischer Adsorption und chemischer Reaktion ziehen.

Es sei betont, daß zwei Fragen in der vorliegenden Arbeit zwar gelegentlich berührt wurden, daß sie aber auf Grund unserer Versuche nicht beantwortet werden können. Erstens die Frage, ob für die Farbstoffaufnahme Ruhlands Ultrafiltertheorie oder die Lipoidtheorie gültig ist, oder ob beiden Prinzipien eine gewisse Bedeutung zukommt. Wir haben nur gesehen, daß die auf Grund der Vitalfärbungsversuche gegen die Ultrafiltertheorie vorgebrachten Gründe auf irrtümlichen Annahmen beruhen. Zweitens haben wir auch die Frage, ob die Salze als Moleküle, Ionenpaare oder Ionen aufgenommen werden, nur kurz berührt. Auch hier konnte nur soviel festgestellt werden, daß keine zwingenden Gründe für die Annahme bestehen, die Aufnahme sei eine Ionenaufnahme; denn die zweifellos wichtige Rolle der H-Ionen erklärt sich zwar aus der Beeinflussung des elektrischen Ladungssinnes von Kolloiden, aber nicht von Kolloiden der Plasmagrenzschicht. Die untersuchten Stoffe können unabhängig von der Wasserstoffionenkonzentration und der angeblich von ihr abhängigen Ladung der Grenzschicht permeieren. Wenn sie trotz eines Konzentrationsgefälles nicht permeieren, so liegt das, wie wir gezeigt haben, nur daran, daß das thermodynamische Gleichgewicht nicht bei der Konzentrationsgleichheit erreicht wird, vielmehr mit einer Änderung der Ionenaktivität einerseits durch Adsorption, andererseits durch die Wasserstoffionen gerechnet werden muß. Es erscheint mir übrigens zweifelhaft, ob die Plasmagrenzschicht ihren Ladungssinn überhaupt so leicht ändern kann, wie man sich das oft vorstellt.

Wir sahen, daß für die pH-Abhängigkeit der Nitratassimilation wohl in erster Linie die verschieden starke Adsorption im Zellsaft verantwortlich zu machen ist. Ist der Zellsaft saurer als etwa pH 4,4 (bzw. das Medium saurer als 3,0), so erfolgt Nitratspeicherung durch Adsorption, ist der Zellsaft aber alkalischer, so kann Nitrat nicht in nachweisbaren Mengen aufgenommen werden. Die Adsorption an Zellsaft-

kolloide scheint also für die Nitratverarbeitung wichtig zu sein und man könnte daraus schließen, daß die ersten Schritte der Nitratassimilation, also die Reduktion zu Nitrit und Ammoniak, im Zellsaft vollzogen werden. Daß die Reduktion nicht in der Nährlösung stattfindet, wurde ja schon in Itzerotts Arbeit betont. Wenn die Nitratreduktion im Plasma stattfände, wäre die feste Bindung an die im Zellsaft gegebenen Bedingungen nicht verständlich.

Die Annahme, daß eine Adsorption des Nitrats an Kolloide notwendig ist, stimmt auch mit anderen Erfahrungen gut überein. Es ist z. B. durch Dittrichs Versuche bekannt, daß die Intensität der Nitratreduktion durch Oberflächenverminderung herabgesetzt werden kann. — Bekanntlich vermuten Warburg und Baudisch eine Oberflächenkatalyse unter Beteiligung von Eisen. Da die Nitratreduktion ein relativ einfacher, auch in Preßsäften leicht nachweisbarer Vorgang ist, stößt unsere Vermutung, die Nitratreduktion finde im Zellsaft statt, auf keine Schwierigkeiten.

Die Tatsache, daß nach Dittrich gerade die höheren Pflanzen Nitrat speichern, deren Preßsäfte eine geringe Wasserstoffionenkonzentration besitzen, steht mit unserem Befund nur scheinbar in Widerspruch. Vielmehr erklärt sich die starke Nitratspeicherung in jenen Fällen nach Dittrich gerade aus der fehlenden oder unzureichenden Reduktionsfähigkeit.

Nach den Untersuchungen von Bach und Desbordes an *Aspergillus repens* muß es noch problematisch erscheinen, wie bei geringem pH-Wert der Nährlösung Nitrat assimiliert werden kann. Zwar reduziert auch *Aspergillus repens* bei hoher Wasserstoffionenkonzentration Nitrat zu Ammoniak, aber dieses Reduktionsprodukt tritt durch eine physikalische Zwangsläufigkeit in die Nährlösung über, ohne zur Eiweißsynthese ausgenutzt werden zu können. Diese Erscheinung wird durch die Dissoziation von NH_3 bzw. NH_4OH in $NH_4^{\cdot}$ und OH' erklärt. Je geringer der pH-Wert ist, um so stärker ist die Dissoziation (bei pH 5,5 erreicht sie praktisch ihr Maximum). Der intrazellulare pH-Wert von *Aspergillus repens* liegt zwischen 5,5 und 7,0; in der Zelle ist also undissoziiertes Ammoniak vorhanden, nicht aber in der sauren Nährlösung, also muß das bei der Nitratreduktion entstandene Ammoniak als Molekül nach außen diffundieren, wo es sofort dissoziiert und die andauernde Fortsetzung der Diffusion ermöglicht. Erst bei geringerer Wasserstoffionenkonzentration ist die Nitratreduktion von der Pflanze ausnutzbar, da jetzt der bei der Reduktion entstandene Ammonstickstoff in der Zelle bleiben muß.

Der von Bach und Desbordes vorgetragene Gesichtspunkt verdient sicher Beachtung; er kann aber keine uneingeschränkte Gültigkeit haben, da *Aspergillus oryzae* und *Aspergillus niger* noch bei sehr hoher Wasserstoffionenkonzentration der Nährlösung, ja gerade dann erst besonders gut Nitrat nicht nur reduzieren, sondern auch verarbeiten. Diese beiden *Aspergillus*arten können nämlich bei sehr hoher Wasserstoffionenkonzentration recht gut mit Nitrat als einziger Stickstoffquelle auskommen (Tamiya, Yamagata, Rippel, Bünning). Da nach unseren Untersuchungen mindestens bei *Aspergillus niger* der pH-Wert des Zellsaftes im Gebiet starker Nitratassimilation höher ist als der der Nährlösung (pH innen größer als 4,2; pH außen kleiner als 3,0 oder sogar kleiner als 2,0), müßte hier, wenn die Überlegungen von Bach und Desbordes anwendbar wären, das entstandene NH_3 sofort hinausdiffundieren. Hier liegt in der Tat ein wichtiges Problem vor; denn die Permeabilität für das undissoziierte NH_4OH ist recht hoch. Die Tatsache, daß Nitrat trotzdem beim Wachstumsprozeß ausgenutzt werden kann, entspricht aber vollkommen der anderen, daß auch das direkt gebotene, also nicht erst durch Nitratreduktion gewonnene Ammoniak noch bei sehr hoher Wasserstoffionenkonzentration gut verarbeitet werden kann, obwohl es dann nach entsprechenden Überlegungen nur in Spuren in die Zellen eindringen kann. Offenbar genügen also, wie auch in Itzerotts Arbeit angedeutet wurde, sehr geringe intrazelluläre Ammoniakkonzentrationen, um eine annähernd optimale Aminosäuresynthese zu gewährleisten. Daß eine meßbare intrazelluläre Ammoniakkonzentration für die Möglichkeit dieser Synthese nicht erforderlich ist, ergibt sich auch schon aus der bekannten Tatsache, daß bei der Assimilation von Nitratstickstoff dessen Reduktionsprodukt Ammoniak normalerweise nur in Konzentrationen auftritt, die zu gering sind, um es nachweisen zu können. (Nach den Angaben von Kostytschew und Tswetkowa für *Aspergillus niger* und für *Mucor racemosus*, sowie denen von Klein, Eigner und Müller für *Aspergillus niger*.) Geringe Mengen von Ammoniak müssen aber ja selbst dann in die Zelle eindringen (bzw. im Falle der Nitratverwertung in ihr verbleiben), wenn die Wasserstoffionenkonzentration außen höher ist als innen. Und sofern diese geringe Menge noch eine gute Synthesegeschwindigkeit gestattet, wird dauernd ein thermodynamisches Ungleichgewicht und damit die Bedingung für weiteres Eindringen des Ammoniaks erhalten.

Der von Bach und Desbordes untersuchte *Aspergillus repens* konnte also wohl nur darum nicht den bei der Nitratreduktion entstandenen NH_3-Stickstoff verarbeiten, weil die hohe Wasserstoffionen-

konzentration (pH 1,6!) den Pilz schon weitgehend geschädigt hat. Entgegen der Auffassung von Bach und Desbordes wäre der Austritt des bei der Nitratreduktion entstandenen Ammoniaks dann nicht so sehr die Ursache als vielmehr die Folge geringer Synthese.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

Die Auffassung, daß sich die Förderung der Anionenaufnahme durch hohe, die Förderung der Kationenaufnahme durch niedrige Wasserstoffionenkonzentration aus einer Beeinflussung des Ladungssinnes der Plasma- bzw. Zelloberfläche erklärt, wird kritisiert und durch Versuche über die Aufnahme saurer und basischer Farbstoffe sowie von Nitrat in die Zellen von *Aspergillus niger* widerlegt.

Die bevorzugte Aufnahme saurer Farbstoffe bei hoher $H^{\cdot}$-Konzentration der die Zellen umgebenden Lösung (pH kleiner als 2,5—3,0) und die bevorzugte Aufnahme basischer Farbstoffe bei geringerer $H^{\cdot}$-Konzentration (pH größer als 2,5—3,0) erklärt sich weder aus einer pH-Abhängigkeit des Ladungssinnes der Zelloberfläche noch sonst in irgendeiner Weise aus der pH-Abhängigkeit der Permeabilität, speziell auch nicht daraus, daß sich (wie Overton ausführte) die Lipoidlöslichkeit saurer Farbstoffe durch Säurezusatz, die Lipoidlöslichkeit basischer Farbstoffe durch Laugenzusatz erhöht. Vielmehr erklärt sich die pH-Abhängigkeit der Farbstoffaufnahme nur daraus, daß das Farbstoffspeicherungsvermögen des Zellsaftes von der Wasserstoffionenkonzentration abhängig ist. Diese Deutung erweist sich schon dadurch als richtig, daß auch der bereits gefärbte Zellsaft sich wieder entfärbt, wenn eine $H^{\cdot}$-Konzentration geschaffen wird, die auch für die Anfärbung ungünstig ist. Mit sauren Farbstoffen gefärbte Zellen entfärben sich also durch Verringerung der Wasserstoffionenkonzentration, mit basischen Farbstoffen gefärbte durch deren Erhöhung.

Dieser Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration beruht offenbar in erster Linie auf einer Beeinflussung des Adsorptionsvermögens von Zellsaftkolloiden; dabei handelt es sich wohl um amphotere Kolloide, die also bei hoher Wasserstoffionenkonzentration positiv geladen sind und Anionen adsorbieren, bei niedriger Wasserstoffionenkonzentration negativ geladen sind und Kationen adsorbieren. In gleicher Weise wirken (wie nach dieser Vorstellung zu erwarten ist) auch Ca- und Al-Ionen; auch sie hemmen die Aufnahme basischer Farbstoffe und können bereits aufgenommene wieder verdrängen. Es ist also entgegen einer verbreiteten Anschauung verfehlt, aus der gehemmten Aufnahme basischer Farbstoffe bei Gegenwart von $Ca^{\cdot\cdot}$ oder $Al^{\cdot\cdot\cdot}$ auf eine Permeabilitäts-

verminderung unter dem Einfluß dieser Ionen zu schließen. Das trifft auch, wie bei *Spirogyra* gezeigt wird, für andere Objekte zu.

Ein Teil der Färbungsversuche läßt sich auch erklären, wenn man nicht der im Zellinnern erreichten Wasserstoffionenkonzentration und ihrem Einfluß auf die Adsorption, sondern dem Verhältnis dieser Konzentration zu der des Mediums die entscheidende Rolle zuschreibt; denn von diesem Verhältnis hängt auch die Richtung des thermodynamischen Gefälles freier Farbsäure bzw. freier Farbbase ab; und daher kann die intrazelluläre Farbstoffkonzentration, die mit der des Mediums im energetischen Gleichgewicht steht, je nach der Richtung des pH-Gefälles erheblich größer oder kleiner sein als die des Mediums.

Für die Nitrataufnahme gelten ähnliche Gesetzmäßigkeiten wie für die Aufnahme saurer Farbstoffe. Die Notwendigkeit, den pH-Wert der Nährlösung unter 2,5—3,0 herabzusetzen, wenn Nitrat assimiliert werden soll, ergibt sich (wie schon Itzerott zeigte) nicht etwa aus einer pH-Abhängigkeit der Nitratreduktion, auch nicht aus einer pH-Abhängigkeit der Nitratpermeabilität (etwa durch die von mehreren Autoren angenommene Notwendigkeit einer Umladung der Plasmagrenzschicht), sondern vor allem aus der Beeinflussung der Speicherungsfähigkeit des Zellsaftes. Nur bei hoher $H^{\cdot}$-Konzentration kann der Zellsaft Nitrat akkumulieren. Bei einer Verringerung der $H^{\cdot}$-Konzentration wird auch bereits gespeichertes Nitrat schnell wieder aus den Zellen verdrängt. Auch hierbei scheint (entsprechend den Farbstoffversuchen) einer von der $H^{\cdot}$-Konzentration abhängigen Adsorption seitens der Zellsaftkolloide die Hauptrolle zuzufallen. Die Notwendigkeit der Nitratadsorption für die Möglichkeit der Nitratreduktion ist auch aus anderen Erwägungen verständlich.

Wenn auch festgestellt wurde, daß die Speicherung von Farbstoffanionen und von Nitrat vorwiegend bei einer Reaktion des Mediums unter pH 2,5—3,0, die Speicherung von Farbstoffkationen bei pH-Werten über 2,5—3,0 stattfindet, so darf doch nicht geschlossen werden, in diesem pH-Bereich liege der isoelektrische Punkt der adsorbierenden Kolloide. Vielmehr muß berücksichtigt werden, daß eine ansehnliche pH-Differenz zwischen dem Medium und dem Zellsaft besteht. Durch Einführung von Indikatorfarbstoffen ließ sich nachweisen, daß der pH-Wert des Zellsaftes dann, wenn der des Mediums 2,5—3,0 beträgt, bei etwa 4,4, jedenfalls aber zwischen 4,2 und 5,0 liegt.

Literatur.

Arends, J., Einfluß chemischer Agentien auf Stärkegehalt und osmotischen Wert der Spaltöffnungsschließzellen. Planta **1**, 84 (1926). — Bach, D. u. Desbordes, D., La transformation directe des nitrates en ammoniaque par le mycelium des cham-

pignons inférieurs. C. r. Ac. Sc. Paris **197,** 1463, 1772 (1933). — Baudisch, O., The mechanism of reduction of nitrates and nitrites in process of assimilation. J. biol. chem. **48,** 489 (1921). — Bethe, A., Der Einfluß der H-Ionenkonzentration auf die Permeabilität toter Membranen. Biochem. Ztsch. **127,** 18 (1922). — Beyer, A. Fr., Über Tropfenbildung in den Schließzellen der Spaltöffnungen. Bot. Arch. **26,** 224 (1929). — Brauner, L., Das kleine pflanzenphysiologische Praktikum II. Teil. Jena 1932. — Bungenberg de Jong, H. G. u. Dekker, W. A. L., Zur Kenntnis der lyophilen Kolloide. Kolloid-Beihefte **43,** 143 (1935). — Bünning, E., Wachstum und Stickstoffassimilation bei Aspergillus niger unter dem Einfluß von Wachstumsregulatoren und von Vitamin B. Ber. Deutsch. Bot. Ges. **22,** 423 (1934). — Collander, R., Über die Permeabilität pflanzlicher Protoplaste für Sulfosäurefarbstoffe. Jahrb. wiss. Bot. **60,** 354 (1921). — Czaja, A. Th., Der Membran- oder Poreneffekt des Adsorptionsgewebes und seine physiologische Bedeutung. Planta **24,** 527 (1935). — Davson, H. u. Danielli, J. F., Studies on the permeability of erythrocytes II. Biochem. Journ. **30,** 316 (1936). — Dastur, R. H. u. Kalyani, V. V., Indian Journ. agr. Sc. **4,** 803 (1934). Zitiert nach Pirschle, Fortschr. d. Bot. **5,** 188 (1935). — Dittrich, W., Zur Physiologie des Nitratumsatzes in höheren Pflanzen. Planta **12,** 69 (1931). — Herzfeld, E. u. Klinger, R., Chemische Studien zur Physiologie und Pathologie V. Biochem. Ztschr., **88,** 232 (1918). — Höber, R. u. Nast, O., Weitere Beiträge zur Theorie der Vitalfärbung. Biochem. Ztschr. **50,** 418 (1913). — Irwin, M., The permeability of living cells to dyes as affected by hydrogen ion conc ntration. J. gen. Physiol. **5,** 233 (1923). — Itzerott, D., Über die Bedingungen der Stickstoffaufnahme bei Aspergillus niger. Flora, N. F. **31,** 60 (1936). — Klein, A., Eigner, A. u. Müller, H., Nitratassimilation bei Schimmelpilzen. Z. physiol. Chem. **159,** 201 (1926). — Kobs, E. u. Robbins, W. J., Hydrogen-ion concentration and the toxicity of basic and acid dyes to fungi. Am. J. Bot. **23,** 133 (1936). — Kostytschew, S. u. Tswetkowa, E., Über die Verarbeitung der Nitrate durch Schimmelpilze. Z. physiol. Chem. **111,** 172 (1920). — Lundegårdh, H. u. Burström, H., Untersuchungen über die Atmungsvorgänge in Pflanzenwurzeln. Biochem. Ztschr. **277,** 223 (1935). — Mond, R., Umkehr der Anionenpermeabilität der roten Blutkörperchen in eine elektive Durchlässigkeit für Kationen. Pflügers Arch. **217,** 618 (1927). — Overton, E., Studien über die Aufnahme von Anilinfarben durch die lebende Zelle. Jahrb. wiss. Bot. **34,** 669 (1900). — Pantanelli, E., Über Ionenaufnahme. Jahrb. wiss. Bot. **56,** 689 (1935). — Pekarek, J., Absolute Viskositätsmessung mit Hilfe der Brownschen Molekularbewegung. VI. Protoplasma **20,** 251 (1933). — Ders., Über die Aziditätsverhältnisse in den Epidermis- und Schließzellen von Rumex acetosa im Licht und im Dunkeln. Planta **21,** 419 (1934). — Rippel, K., Quantitative Untersuchungen über die Abhängigkeit der Stickstoffassimilation von der Wasserstoffionenkonzentration bei einigen Pilzen. Arch. Mikrobiol. **2,** 72 (1931). — Rhode, K., Untersuchungen über den Einfluß der freien H-Ionen im Inneren lebender Zellen auf den Vorgang der vitalen Färbung. Pflügers Arch. **168,** 411 (1917). — Ruhland, W., Studien über die Aufnahme von Kolloiden durch die pflanzliche Plasmahaut. Jahrb. wiss. Bot. **51,** 376 (1912). — Ders., Zur Kenntnis der Rolle des elektrischen Ladungssinnes bei der Kolloidaufnahme durch die Plasmahaut. Ber. Deutsch. Bot. Ges. **31,** 304 (1913). — Ders., Weitere Beiträge zur Kolloidchemie und physikalischen Chemie der Zelle. Jahrb. wiss. Bot. **54,** 391 (1914). — Scarth, G. W., Mechanism of the action of light ... on stomatal movement. Plant Physiol. **7,** 481 (1932). — Strugger, S., Beiträge zur Gewebephysiologie der Wurzel. Zur Analyse und Methodik der Vitalfärbung pflanzlicher Zellen mit Neutralrot. Protoplasma **24,** 108 (1935). — Szüsc, J., Experimentelle Beiträge zur Theorie der antagonistischen Ionenwirkungen. Jahrb. wiss. Bot. **52,** 85 (1912). — Tamiya, H., Studien über die Stoffwechselphysiologie von Aspergillus oryzae. I. Acta Phytochim. **3,** 51 (1927). — Wrangell, W. v., Ztschr. physikal. Chem. A. **139,** 351 (1928). (Zitiert nach K. Stern, Pflanzenthermodynamik. Berlin 1933.) — Yamagata, S., Über den Einfluß der Stickstoffquelle auf den Gaswechsel des Schimmelpilzes. Beiträge zur Physiologie der Nitratassimilation I. Acta Phytochim. **8,** 117 (1934). — Yamaha, G., Weitere Beiträge zur Kenntnis über den isoelektrischen Punkt pflanzlicher Protoplasten. Sc. Rep. Tokyo Bunrika Daigaku Sect. B. **2,** 209 (1936). — Zondek, S. G., Die Elektrolyte. Berlin 1927.

Die Vitalfärbung der Chloroplasten von Helodea mit Rhodaminen.

Von **Siegfried Strugger.**

Mit 4 Abbildungen im Text.

(Aus der Botanischen Anstalt der Friedrich-Schiller-Universität Jena.)

Es ist die Aufgabe der Vitalfärbungstechnik, brauchbare Verfahren zum Anfärben verschiedener Zellbestandteile zu entwickeln und so zum Ausbau der Zell- und Gewebephysiologie beizutragen. Bisher gelang lediglich die vitale Anfärbung der Vakuole, des Cytoplasmas, des Zellkernes und der Membran. Die vorliegende Arbeit berichtet nunmehr über die gelungene vitale Anfärbung der Chloroplasten von *Helodea canadensis* und *Helodea densa* mit dem Triphenylmethanfarbstoff Rhodamin B. Daneben sollen noch Befunde mit anderen Rhodaminen vergleichsweise erörtert werden.

Für den Pflanzenphysiologen ist die Vitalfärbung der Plastiden von großem Interesse. Gelingt sie, so steht der Erforschung der Assimilationsvorgänge ein neues wichtiges Arbeitsgebiet offen. Es lassen sich dann die Fragen nach den Zusammenhängen zwischen Lichtabsorption und Assimilation des Kohlenstoffes mit zellphysiologischen Methoden prüfen, vorausgesetzt, daß die Anfärbung der Plastiden nicht den Assimilationsvorgang hemmt. Auch für die wichtige Forderung nach einer protoplasmaphysiologischen Analyse der Chloroplasten kann in Anbetracht unserer geringen Kenntnisse auf diesem Gebiete die vorliegende Arbeit von Bedeutung sein.

1. Helodea canadensis.

Ganze Sproßenden mit gut entwickelten Knospen wurden mit Rhodamin B (E. Merck), das im Verhältnis 1:1000 in schwach alkalischem Leitungswasser gelöst war, eine Stunde lang angefärbt.

Schon bei makroskopischer Betrachtung kann man eine starke, dunkelrote Anfärbung aller Blätter feststellen. Die mikroskopische Untersuchung eines alten Blattes lehrt, daß die Zellen der Oberseite eine deutliche diffuse Vakuolenfärbung aufweisen, die jedoch gegen die

Basis hin schwächer wird. Auch in den Zellen der Mittelrippe wird der Farbstoff sehr stark in den Vakuolen gespeichert, was bekanntlich mit anderen Vitalfarbstoffen nicht eintritt (vgl. Moder, 1932). Besonders gut läßt sich die Vakuolenfärbung aber nach erfolgter Plasmolyse mit 1 Mol Harnstoff zeigen, die völlig normal verläuft. Die Vitalität der Färbung läßt sich außerdem noch durch die direkte Beobachtung der Plasmaströmung in allen Zellen klar nachweisen. Das Cytoplasma, der Kern und die Zellmembran sind nicht gefärbt. Wohl aber zeigen die Chloroplasten eine schmutziggrüne Farbe. Beobachten wir die kleinzelligere Unterseite des Blattes, so stellen wir fest, daß eine Vakuolenfärbung auch nach erfolgter Plasmolyse nicht nachweisbar ist. Die Chloroplasten weisen die oben erwähnte schmutzig-rotgrüne Verfärbung auf. Demnach lag es nahe, an eine Speicherung des roten Farbstoffes in den Plastiden zu denken. Um eine Rotfärbung der Plastiden optisch nachweisen zu können, beobachtete ich vergleichsweise die ungefärbten und gefärbten Blätter im grünen Licht. Als Filter fand das Lifa Grünfilter Nr. 200 b Verwendung. Die spektroskopische Prüfung des Filters ergab eine sehr gute Durchlässigkeit für grün zwischen λ 500 bis 550 und eine allerdings sehr schwache Durchlässigkeit für das dunklere Rot bei λ 710. Das hellere Rot wird vollkommen absorbiert. Beobachtet man mit diesem Filter die ungefärbten Chloroplasten, so erscheinen sie als hellgrüne Gebilde. Die photographische Aufnahme (Fig. 1) zeigt uns die ungefärbten Plastiden im grünen Licht. Untersuchen wir jedoch die Zellen eines gefärbten Blattes im grünen Licht, so erscheinen die Chloroplasten dunkelgrau bis schwarz, je nach der Stärke der Anfärbung. Fig. 2 zeigt uns vergleichsweise eine Aufnahme von gefärbten Chromatophoren im grünen Licht.

Fig. 1. Ungefärbte Zellen des Blattfeldes der Unterseite von *Helodea canadensis*. Lifa Grünfilter Nr. 200 b. Die Chloroplasten sind als helle Gebilde zu erkennen. $^1/_{12}$ Ölimmersion, Periplanat 8×.

Auf Grund dieser Beobachtungen bestand kein Zweifel, daß die Chloroplasten von *Helodea canadensis* den Farbstoff vital zu speichern vermögen.

Diese Vitalfärbung der Plastiden tritt bereits innerhalb sehr kurzer Zeit auf, was auch für die Vakuolenfärbung zutrifft. Bereits nach 10 Minuten langer Anfärbung der Blätter in Rhodamin B 1:1000 ist sie optisch

einwandfrei nachweisbar. Auch durch die Beobachtung der Vakuolenfärbung ist das rasche Eindringen des Farbstoffes leicht nachzuweisen.

Zunächst ist die Vakuolenfärbung diffus, bei längerer Anfärbung aber zeigen die Zellen der Blattoberseite zuerst eine feinkrümelige, später eine grobkrümelige Speicherungsform des Farbstoffes. Färbt man länger an (2—4 Stunden), so wird die Färbung sowohl in den Vakuolen als auch in den Plastiden bedeutend stärker, was aber für die Vitalität der Färbung keineswegs vom Nachteil ist. Die Zellen sind mit 1 Mol Harnstoff und 1 Mol $CaCl_2$ normal plasmolysierbar und zeigen schöne, oft etwas stimulierte Plasmaströmung. Bei längerer Anfärbung konnte ich lediglich bei Plasmolyse mit 1 Mol KNO_3 ein häufigeres Auftreten von Tonoplastenplasmolysen in den Blattfeldzellen der Oberseite sehen. Trotzdem ist die Färbung aber noch als vital zu bezeichnen, was die Versuche einer Weiterkultivierung klar zeigten.

Fig. 2. Mit Rhodamin B gefärbte Zellen des Blattfeldes der Unterseite von *Helodea canadensis*. Lifa Grünfilter Nr. 200 b. Die Chloroplasten sind als schwarze Gebilde zu sehen. $^1/_{12}$ Ölimmersion, Periplanat 8×.

Für unsere Kenntnis der protoplasmatischen Anatomie des *Helodea*-Blattes (vgl. Moder 1932, Meindl 1934) ist es von Bedeutung, daß ein prinzipieller Unterschied in der Anfärbung der Blattfeldzellen der Ober- und Unterseite sichergestellt werden konnte.

Die Zellen der Oberseite speichern den Farbstoff sowohl in den Plastiden als auch in den Vakuolen. Dabei konnte einwandfrei festgestellt werden, daß die Vakuolenfärbung gegen die Blattbasis hin allmählich schwächer wird. Am stärksten ist sie im oberen Mittelteil des Blattes und zeigt auch ein Schwächerwerden in der Richtung von der Mittelrippe zum Rand hin. Jüngere ausgewachsene Blätter zeigen oft an ihrer Oberseite eine Randzone, in der lediglich nur die Plastiden gefärbt erscheinen. Die Zellen der Unterseite dagegen speichern den Farbstoff nur in den Plastiden. Fig. 3, *1* zeigt uns die Farbstoffverteilung in der Oberseite eines jüngeren aber bereits fast ausgewachsenen Blattes unterhalb der Knospe. Schwarz ist die Zone gehalten, in der der Farbstoff in den Plastiden und in der Vakuole gespeichert ist. Punktiert dagegen ist die Zone der reinen Plastidenfärbung. Es war nunmehr von Bedeutung, diese Verhältnisse bei jüngeren Blättern aus der Knospe zu

studieren. Fig. 3, *2—11* gibt uns einen schematischen Überblick über die gefundenen Tatsachen. Berücksichtigt wurde dabei lediglich die Blattoberseite, die Unterseite verhält sich völlig gleich, nur die Komplikation mit der Vakuolenfärbung fällt weg. Schon das nächst jüngere Blatt (*2*) zeigt uns, daß an der Basis eine typisch begrenzte, ungefärbte Zone auftritt. Das Areal, welches Plastiden und Vakuolenfärbung aufweist, beschränkt sich nur mehr auf eine in der oberen Blatthälfte gelegene Zone, die allmählich in die Zone der reinen Plastidenfärbung übergeht. Wir sehen, wie sich dann bei Blatt *3*, *4*, *5*, *6* sowohl die ungefärbte basale Zone, als auch das Areal der Plastiden und Vakuolenfärbung allmählich gesetzmäßig verändern. Die ungefärbte Basalzone wird im Verhältnis zur Blattfläche größer, während die gefärbten Spitzenzonen immer kleiner werden. Schließlich ist bei Blatt *7* die Vakuolen-

Fig. 3. Nach dem Alter geordnete Blätter aus der Knospe von *Helodea canadensis*, die mit Rhodamin B vitalgefärbt wurden. Schwarz: Vakuolen und Plastidenfärbung; Punktiert: Plastidenfärbung.

färbung völlig verschwunden, und wir sehen in der kleinen typisch begrenzten Spitzenzone lediglich eine reine Plastidenfärbung auftreten. Die jüngsten Blätter sind überhaupt nicht mehr färbbar.

Um etwa dem Einwande zu begegnen, daß in der engen Knospenlage der Farbstoff zu den basalen Teilen der jungen Blätter keinen Zutritt gefunden haben könnte, habe ich dasselbe Experiment an vorsichtig lospräparierten Blättern im Schälchen wiederholt. Das Ergebnis war dasselbe geblieben.

Wir haben somit eine klare Entwicklungsreihe vor uns, und es bleibt die Frage zu prüfen, wie sollen wir diesen Befund deuten.

In der Literatur finden sich in dieser Richtung zwei Angaben. Lilienstern (1935) fand für die Methylenblauspeicherung junger Blätter von *Helodea canadensis* und *Helodea densa*, daß lediglich je nach dem Alter der Blätter nur eine verschieden große Spitzenpartie gefärbt erscheint. Durch geeignete Versuche konnte sie nachweisen, daß der Farbstoff durch die basalen jüngeren Zellen vollständig reduziert wird. Fast gleichzeitig konnte ich (1935) zeigen, daß das schwer reduzierbare Neutral-

rot bei *Helodea densa* denselben gesetzmäßigen Anfärbungsmodus bewirkt. In meinen Versuchen konnte also das Reduktionsvermögen der jungen, basal gelegenen Zellen keine Rolle spielen. Ich stellte schon damals für meine Versuche die Erklärung auf, daß der Farbstoff in die basalen Zellen gar nicht einzudringen vermag. Für das Rhodamin B liegen aber die Verhältnisse noch klarer wie für das Neutralrot. Mit Rongalit läßt sich nämlich das Rhodamin B überhaupt nicht reduzieren. Es besteht sonach kein Zweifel, daß in unserem Falle Permeabilitätsdifferenzen bei der Farbstoffverteilung eine große Rolle spielen. Dieser Fall beweist, wie sehr man sich vor einer generellen Ausdeutung von an und für sich gleichen Färbungsbildern hüten muß. Tritt nur Plastidenfärbung ein, so kann der Farbstoff in erster Linie durch die äußere Plasmagrenzschicht in den Protoplasmabelag eintreten. Wir werden also bei einer reinen Plastidenfärbung von Intrabilität sprechen müssen. Wird aber der Farbstoff auch in der Vakuole gespeichert, so permeiert er durch den Protoplasmawandbelag in die Vakuole. Daß bei der reinen Plastidenfärbung eine Verschiedenheit der Farbstoffdurchlässigkeit der äußeren und inneren Plasmagrenzschicht vorliegt, zeigt uns klar die Tatsache, daß bei längerer Färbung auch die Vakuolen dieser Zellen den Farbstoff allmählich zu speichern vermögen, die bei kürzerer Anfärbung normalerweise keine Vakuolenfärbung aufweisen. Wäre allein die wechselnde Intrabilität und Permeabilität dabei ausschlaggebend, so hätten wir in gesetzmäßiger Verteilung innerhalb des wachsenden *Helodea*-Blattes dreierlei Kategorien von Zellen. 1. Zellen die weder intrameabel noch permeabel für den Farbstoff sind. 2. Zellen, die nur intrameabel sind und erst bei längerer Färbung auch eine geringe Permeabilität anzeigen und 3. Zellen, die intrameabel und permeabel für den Farbstoff sind.

Die von Weber (1929) geforderte protoplasmatische Pflanzenanatomie wurde von seinen Schülern (Moder 1932 u. Meindl 1934) gerade am erwachsenen *Helodea*-Blatt zum ersten Male auf breitere Basis gestellt. Viele bedeutende Einzelheiten konnten durch diese Untersuchungen aufgedeckt werden, so daß unsere Befunde auf Grund dieser Vorarbeiten nicht überraschen. Die vorliegenden Ergebnisse reihen sich sehr schön an diese Befunde an. So ist das abweichende Verhalten der Areale links und rechts von der Mittelrippe im oberen Blatteil bereits zu wiederholten Malen festgestellt worden (Weber 1932, Moder 1932, Meindl 1934, Esteřák 1935). Meine Befunde am sich entwickelnden Blatt zeigen Gesetzmäßigkeiten, wie sie hier allerdings zum ersten Male im bewußten Zusammenhange mit der protoplasmatischen Anatomie aufgezeigt werden konnten. Da die einzelnen Zonen allmählich ineinander

übergehen, können wir mit Recht von Gradienten sprechen. Bei der Betrachtung junger, vitalgefärbter Blätter zeigen sich sonach im wesentlichen zwei Gradienten; ein Längsgradient, der insbesondere mit der Verteilung der Wachstumszonen parallel läuft und sich auf die Plastidenfärbung in erster Linie bezieht. Parallel mit der Anfärbung läßt sich dieser Längsgradient noch sehr schön durch die Verteilung der Plasmolyseformen zeigen. Wo Plastidenfärbung eintritt runden sich die Protoplasten nach Plasmolyse mit 0,6 Mol KNO_3 rasch ab. Dagegen tritt langandauernde Konkavplasmolyse an der Grenze der gefärbten Zone bereits auf. Die ungefärbten basalen Zellen zeigen dagegen eine sehr stark ausgeprägte Krampfplasmolyse (vgl. Strugger 1934). Außer diesem Längsgradienten ist im Blatt der *Helodea canadensis* noch ein Quergradient entwickelt, der die Vakuolenfärbung betrifft. Dieser findet sich aber nur im Blattfeld der Oberseite.

Aus diesem Beispiele ersehen wir, daß die Vitalfärbung eine durchaus brauchbare Methode zur Gewebsanalyse darstellt, und daß sie bei weiterem Ausbau noch viele wertvolle Dienste für die protoplasmatisch-anatomische Durchforschung der Gewebe wird leisten können.

Durch die Vermittlung der I. G. Frankfurt a. M. konnte ich noch andere Rhodamine vergleichsweise zur Untersuchung heranziehen[1]). Es standen mir außer Rhodamin B noch zur Verfügung: Rhodamin S, Rhodamin 6 G, Violamin R, Sulforhodamin G und Sulforhodamin B.

Von diesen Farbstoffen konnte ich lediglich eine Plastiden- und Vakuolenfärbung nur mit dem Rhodamin 6 G noch erzielen. Dieser Farbstoff tritt ungemein schnell in die Zelle ein und färbt die Plastiden noch intensiver an als das Rhodamin B. Auch die Vakuolen der Oberseite sind mit dicht geballten Farbstoffflocken erfüllt. Die übrigen Rhodamine dagegen dringen kaum in die lebende Zelle ein. Es erhob sich nunmehr die Frage, welcher Faktor für das Eindringen und für die Vitalfärbung der Plastiden verantwortlich zu machen ist. Da die Chloroplasten bekanntlich reichlich Lipoide enthalten, lag sofort der Gedanke nahe, daß die wechselnde Lipoidlöslichkeit der Farbstoffe in erster Linie maßgeblich ist. Ich prüfte sonach die Farbstoffe auf ihre Löslichkeit in Olivenöl und fand eine völlige Übereinstimmung der Öllöslichkeit mit dem Vermögen in die Zellen einzudringen und die Plastiden anzufärben. Rhodamin B und Rhodamin 6 G allein erwiesen sich als überaus stark öllöslich. Es kann sonach wohl kein Zweifel darüber bestehen, daß der Farbstoff in der lipoiden Phase der Plastiden gespeichert wird.

1) Der I. G. möchte ich an dieser Stelle herzlichst danken.

2. Helodea densa.

Dieselben Untersuchungen wurden dann mit der gleichen Methodik an den Blättern von *Helodea densa* vorgenommen. Hier zeigten sich viel einfachere Verhältnisse als bei *Helodea canadensis*. Eine Vakuolenfärbung trat in den Zellen des Blattfeldes niemals auf, lediglich die Plastiden der Blattfeldzellen der Ober- und Unterseite speichern das Rhodamin B. Die Zellen der Mittelrippe und des Blattrandes dagegen weisen neben der Plastidenfärbung auch eine starke diffuse Farbstoffspeicherung in ihren Vakuolen auf. Auch hier konnte die Vitalität der Färbung durch die direkte Beobachtung der Plasmaströmung und durch Plasmolysierung nachgewiesen werden. Eine Überfärbung tritt jedoch bei *Helodea densa*

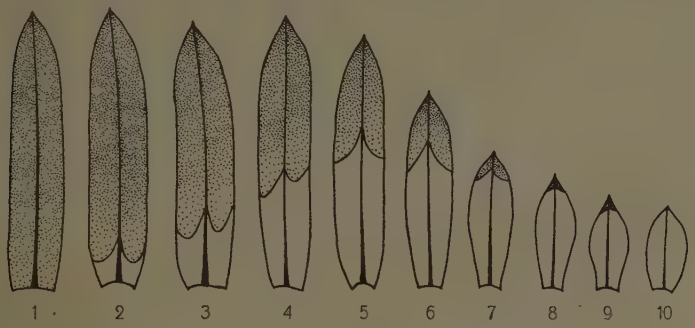


Fig. 4. Nach dem Alter geordnete Blätter aus der Knospe von *Helodea densa* mit Rhodamin B vital gefärbt. Punktiert: Plastidenfärbung.

früher ein als bei *H. canadensis*. Dann sterben die Zellen ab, zeigen aber vorher eine pathologische Stimulation der Plasmaströmung.

Die Untersuchung der Knospenblätter ergab wiederum eine klare Gesetzmäßigkeit der Farbstoffverteilung in der Abhängigkeit vom Alter des Blattes. Fig. 4 zeigt uns eine schematische Zusammenstellung verschieden alter Blätter aus der Knospe. Hier haben wir lediglich einen deutlich entwickelten Längsgradienten, der allein nur die Anfärbung der Plastiden betrifft. Er ist vollkommen identisch mit dem Plasmolyseform- und -zeitgradienten und mit dem Gradienten der Vitalfärbung mit Neutralrot (vgl. Strugger 1935).

Vergleichen wir nunmehr *Helodea densa* mit *Helodea canadensis*, so ergibt sich die wichtige Feststellung, daß zwei so konvergente Formen vom Standpunkte der protoplasmatischen Pflanzenanatomie doch recht erhebliche Unterschiede aufweisen. Vor einer Generalisierung ist also auch hier sehr zu warnen. Vor allem aber sehen wir klar, daß

eine vergleichend entwicklungsgeschichtliche Betrachtung den Aufbau einer protoplasmatischen Anatomie sehr fördern kann.

3. Die Vitalität der Färbung.

Der Begriff Vitalfärbung hat in der Literatur schon zu mancherlei Unstimmigkeiten geführt. Fast alle Anilinfarbstoffe sind giftig, so daß schon aus diesem Grunde eine klare Definition dieses Begriffes auf erhebliche Schwierigkeiten stößt. Unter Vitalfärbung kann man auf Grund des bisher vorliegenden Tatsachenmaterials prinzipiell zweierlei Dinge verstehen. Eine Zelle kann einen Farbstoff speichern und kann sowohl während der Färbung als auch unmittelbar nachher noch typische Lebenserscheinungen zeigen. Sie kann plasmolysierbar sein, Atmung, Assimilation und Wachstum aufweisen, und auch die Plasmaströmung kann beobachtet werden, und trotzdem ist diese Zelle nicht mehr im Stande, noch längere Zeit hindurch weiterzuleben. Früher oder später beginnt sie infolge der Giftwirkung des Farbstoffes zu degenerieren und stirbt schließlich ab. Die weitaus meisten bisher beschriebenen Fälle einer vitalen Anfärbung von Pflanzenzellen würden in diese Kategorie zu stellen sein. Mit der vitalen Färbung wäre also eine Vergiftung mit letalem Ausgange verbunden. Einen solchen Fall aber als Vitalfärbung im strengen Sinne einer Definition zu bezeichnen, ist logisch sicherlich unzulässig.

Im exakten Sinne würde eine Vitalfärbung dann vorliegen, wenn trotz der Farbstoffspeicherung die gefärbten Zellen bei Weiterkultur der Pflanze am Leben bleiben würden. Bei niederen Pflanzen, besonders bei Pilzen (vgl. Grohrock 1935) ist eine solche Weiterkultur und damit der Nachweis der Vitalität der Färbung bereits geglückt. Bei höheren Pflanzen dagegen steht es damit noch sehr im argen. Pfeffer (1886) konnte die Pflanzen von *Trianea bogotensis*, deren Wurzelhaarvakuolen mit Methylenblau vitalgefärbt waren, längere Zeit hindurch weiterkultivieren. Es trat eine allmähliche Entfärbung der Zellen ein, und die Wurzelhaare blieben am Leben. Eine Weiterkultur von Zellen, deren Cytoplasma oder deren Zellkern vital angefärbt war, gelang aber bisher bei höheren Pflanzen nicht. Im strengen Sinne dürfte man eigentlich nur solche Fälle als Vitalfärbung bezeichnen.

Die beiden gegensätzlichen Begriffe „vital" und „letal" lassen sich aber nicht unterteilen. Begriffe wie supravital müssen abgelehnt werden, weil sie im Grunde genommen nichts besagen.

Um aber eine kurze und definierbare Einordnung von Färbungsbefunden zu ermöglichen, halte ich es für zweckmäßig, die bisherige

Nomenklatur zu verlassen und eine Neuordnung der Begriffe vorzunehmen.

Da aber der Begriff Vitalfärbung nicht aus der Welt geschafft werden kann, schlage ich vor, als Vitalfärbung schlechthin alle diejenigen Fälle zu bezeichnen, bei denen noch intra vitam eine Farbstoffspeicherung festgestellt werden kann. Für die klare Bestimmung eines Färbungsergebnisses schlage ich aber folgende Nomenklatur vor:

1. Die inturbante Färbung[1]).

Wir bezeichnen als inturbant eine Färbung dann, wenn weder unmittelbar nach der Färbung noch bei Weiterkultur der Pflanze sichtbare Schädigungen der gefärbten Zellen eintreten. Die inturbante Färbung ist der Idealfall einer vitalen Färbung und soll das Ziel einer brauchbaren Vitalfärbungstechnik sein.

2. Die turbante Färbung[2]).

Eine Färbung wird dann als turbant zu bezeichnen sein, wenn zwar nicht während der Färbung und unmittelbar nach derselben sichtbare Schädigungen auftreten, wohl aber der Farbstoff auf die Dauer als Gift wirkt und die Zellen dann doch früher oder später bei erfolgter Weiterkultur der Pflanze allmählich auftretende Desorganisationserscheinungen mit letalem Ausgange aufweisen.

3. Die perturbante Färbung[3]).

Perturbante Färbungen sind solche, bei denen bereits während der Färbung und unmittelbar nach dem Färbeprozeß pathologische Veränderungen der Zelle nachweisbar sind. Die Zellen sind aber dabei noch nicht abgestorben. Erst später kann der Zellentod erfolgen.

4. Die disturbante Färbung[4]).

Als disturbant bezeichnen wir eine Färbung, bei der schon während der Farbstoffspeicherung die Zellen durch die starke Giftwirkung eines Farbstoffes letal geschädigt sind. Die disturbante Färbung fällt naturgemäß nicht mehr unter den erweiterten Begriff der Vitalfärbung.

Bezüglich der Farbstoffspeicherung lassen sich dann noch weiterhin zwei wichtige Kategorien aufstellen:

a) Die irreversible Farbstoffspeicherung.

Der einmal gespeicherte Farbstoff kann die Zelle nicht mehr verlassen und wird auch von der lebenden Zelle nicht abgebaut. Er ver-

1) von inturbidus = ungestört.
2) von turbare = Unordnung bringen.
3) von perturbare = stören.
4) von disturbare = zerstören.

bleibt demnach bei Weiterkultur sichtbar in der Zelle und kann zu Schädigungen führen.

b) Die reversible Farbstoffspeicherung.

Der Farbstoff ist nur labil an die Zelle oder an den Zellteil gebunden. Er kann die Zelle oder den Zellbestandteil wiederum verlassen.

Im ersteren Falle beziehen wir die reversible Farbstoffspeicherung auf die ganze Zelle. Im zweiten Falle dagegen kann sich der Begriff der Reversibilität auch nur auf einen Teil der Zelle beschränken.

Es ergibt sich nunmehr die Frage, wie können wir die in der vorliegenden Arbeit beschriebenen Vitalfärbungen in dieses Schema einreihen. Für diese Entscheidung war es notwendig, die vitalgefärbten *Helodea*-Pflanzen im normalen Lebensmilieu nunmehr weiterzukultivieren und zu beobachten, wie weit die Farbstoffspeicherung reversibel und die Färbung inturbant ist.

Helodea densa.

Ganze Sprosse mit gut entwickelten Knospen wurden ½—1 Stunde lang mit Rhodamin B 1:1000 in Leitungswasser gefärbt. Die Betonung des Leitungswassers ist methodisch ungemein wichtig, denn die Versuche zeigten, daß eine Verwendung des schwach sauren doppelt destillierten Wassers zu schweren Vergiftungserscheinungen führt und keinesfalls eine Reproduktion der im vorigen Kapitel beschriebenen Versuche zuläßt. Dann wurden einzelne Blätter mikroskopisch auf die Plastidenfärbung hin geprüft und der Sproß in ein kleineres Aquarium in reines Leitungswasser gegeben. Jeden Tag wurde das Leitungswasser erneuert und eine eingehende Prüfung der Vitalität (Plasmolyse, Beobachtung der Plasmaströmung) vorgenommen.

Waren die Plastiden kurz nach der Färbung stark vital angefärbt, so begann diese Färbung bereits nach wenigen Stunden auszublassen. Gleichzeitig diffundiert der Farbstoff in schön fluoreszierenden Wolken aus der Pflanze heraus und färbt allmählich das Wasser rosa an. Nach 12 Stunden sind die Chloroplasten wiederum rein grün, und nur die Zellen der Mittelrippe und die Schleimidioblasten weisen noch eine kontrastreich hervortretende Vakuolenfärbung diffuser Natur auf. In weiteren 24 Stunden beginnt zunächst die Vakuolenfärbung der Zellen der Mittelrippe, später die der Schleimidioblasten auszublassen, und schließlich sind alle Zellen der Pflanze vollkommen entfärbt. Der Sproß wächst normal weiter, und alle Blätter bleiben durch Wochen hindurch völlig am Leben.

Wir werden demnach die vitale Plastidenfärbung als inturbante Färbung zu bezeichnen haben. Die Farbstoffspeicherung ist reversibel.

Macht man dasselbe Experiment mit Rhodamin 6 G, so ergibt sich ein wesentlich anderer Befund. Die Zellen zeigen nur mehr gelegentlich geringe Plasmaströmung, sind zwar noch plasmolysierbar, Cytoplasma und Zellkern zeigen eine leichte Farbstoffspeicherung. Bei Weiterkultur jedoch geht schon in einigen Stunden die Plasmolysierbarkeit verloren. Es tritt reine Tonoplastenplasmolyse in KNO_3 ein, der Farbstoff vermag die Zellen nicht mehr zu verlassen, und schließlich sterben alle gefärbten Zellen ab.

Die Färbung mit Rhodamin 6 G ist also perturbant und die Speicherung ist irreversibel.

Helodea canadensis.

Dieselben Versuche wurden nunmehr mit *H. canadensis* durchgeführt. Hier treten im Zusammenhange mit der oft starken Vakuolenfärbung wesentlich kompliziertere Verhältnisse auf. Die alten Blätter entfärben sich durch Exosmose des Farbstoffes innerhalb von 24 Stunden vollständig. Die Vitalität der Zellen konnte klar erwiesen werden, und die Blätter bleiben am Leben. Die noch in Entwicklung begriffenen Blätter aus der Knospe (vgl. Fig. 3, Blatt *2—6*) zeichnen sich dagegen dadurch aus, daß die herzförmige Zone in der Spitzenhälfte des Blattes den Farbstoff nicht abzugeben vermag. 3—4 Tage bleiben diese Zellen völlig am Leben, zeigen normale Plasmolysierbarkeit und gute Plasmaströmung. Schließlich beginnen sie abzusterben. Die jüngsten, kaum gefärbten Blätter der Knospe werden nicht geschädigt. Auf diese Weise entsteht beim Weiterwachsen des Sprosses eine Zone von Blättern unterhalb der Knospe, die in gesetzmäßiger Weise an ihren Spitzenpartien große, dunkelrot gefärbte, abgestorbene Teile erkennen lassen. Färbt man länger als eine Stunde an, so treten diese Zonen noch schärfer hervor.

Die Vitalfärbung der ausgewachsenen Blätter müssen wir sonach als inturbant bezeichnen. Bei den jungen Blättern dagegen liegt für die absterbenden Zonen eine irreversible Farbstoffspeicherung vor, und die Färbung werden wir als turbant bezeichnen.

Auch mit Rhodamin 6 G wurden diese Versuche durchgeführt. Unmittelbar nach der Färbung erscheinen die Plastiden und Vakuolen stark gefärbt. Bei Weiterkultur verbleibt der Farbstoff in den Zellen. Die Speicherung des Rhodamin 6 G ist also auch hier irreversibel. *Helodea canadensis* ist etwas resistenter gegen diesen Farbstoff als *H. densa.* Die Zellen bleiben noch 3—4 Tage lang plasmolysierbar, zeigen gelegent-

lich Plasmaströmung, vermögen aber, wie wir im nächsten Kapitel erfahren werden, sofort nach der Färbung nicht mehr zu assimilieren. Die Färbung ist sonach eine perturbante.

4. Vorversuche zur Frage der Assimilationstüchtigkeit vitalgefärbter Plastiden.

Nachdem durch die geschilderten Beobachtungen die Vitalfärbung der Plastiden von *Helodea* mit Rhodamin B sichergestellt werden konnte, blieb schließlich noch die Frage offen, ob die vitalgefärbten Plastiden noch imstande sind, ihre wichtigste Funktion, nämlich die Assimilation des Kohlenstoffes, durchzuführen. Erst im Falle einer Bejahung dieser Frage können wir mit voller Sicherheit von einer inturbanten Vitalfärbung der Plastiden sprechen.

Im Rahmen dieser Untersuchung soll diese Frage nur in Vorversuchen in Angriff genommen werden, denn es handelte sich mir zunächst lediglich um die klare Feststellung, ob eine Assimilation vitalgefärbter Plastiden möglich ist. Die quantitative Seite dieses Problems soll in einer eigenen geplanten Untersuchung studiert werden, denn sie soll die Fragen zwischen Lichtabsorption und Assimilation mit Hilfe der vitalen Färbung prüfen.

Zum Nachweis der Assimilation bediente ich mich der Blasenzählmethode, die ja gerade für die *Helodea canadensis* recht gut anwendbar ist.

Auf einer optischen Bank wurde als Beleuchtungsquelle eine Bogenlampe benutzt. Mit einem Kondensor wurde das Licht auf eine planparallele Glasküvette geworfen, in der der Sproß montiert war. Dazwischen wurde eine Wärmefilterküvette vorgeschaltet (Eisensulfat), so daß während der Versuche die Temperatur in der Versuchsküvette gut konstant blieb. Mit einem Projektionsobjektiv wurde die ganze Versuchsanordnung auf einen Wandschirm geworfen, so daß die Zählung der Blasen bequem vorgenommen werden konnte. Besonderer Wert wurde auf eine gute Schnittfläche gelegt, die am ungefärbten Sproß gewonnen und während der Versuche möglichst beibehalten wurde, so daß wenigstens für den vorgesehenen Zweck eine Vergleichbarkeit der gefundenen Blasenzahlen möglich war. In der Regel habe ich die Zahl der Blasen innerhalb von 10 Sekunden gezählt. Zwischen den Zählungen wurde eine oder zwei Dunkelperioden (—) von 3 Minuten Dauer eingeschaltet. Dabei wurde der Assimilationsstillstand genau beachtet. Während der Assimilationsversuche untersuchte ich laufend Blätter zur Kontrolle mikroskopisch, damit auch die Anfärbung der Plastiden immer

sichergestellt war. Die folgenden Tabellen zeigen das Ergebnis mit Rhodamin B.

Die einzelnen Zahlen bedeuten die Anzahl der Blasen in 10 Sekunden. Die Striche geben die jeweils eingeschalteten Dunkelperioden an.

Aus diesen Versuchen folgt mit Sicherheit, daß die mit Rhodamin B vitalgefärbten Plastiden von *Helodea canadensis* noch ausgiebig, mitunter sogar etwas stärker assimilieren können. Eine Hemmung der Assimilation tritt auch nachlänger dauernder Färbung nicht auf, und wie Versuche zeigten, können Sprosse, die tags zuvor gefärbt und dann in Leitungswasser gelegt wurden, noch normal weiterassimilieren. Erst jetzt haben wir auf Grund aller Versuche die volle Berechtigung zu sagen, daß die Plastidenfärbung inturbant ist.

Tabelle 1. $t = 19^{\circ}$ C

Ungefärbte Pflanze	25′ gefärbt	55′ gefärbt
20	16	28
20	18	29
18	19	28
—	—	—
22	22	24
23	21	24
21	24	26
20	25	24
20	25	23
19	25	25
	—	24
	24	25
	24	26
	23	

Tabelle 2. $t = 20^{\circ}$ C

Ungefärbte Pflanze	48′ gefärbt	1 h 33′ gef.	2 h 3′ gef.	2 h 33′ gef.	3 h 15′ gef.	4 h 19′ gef.	5 h 35′ gef.
26	19	18	23	20	18	17	19
27	20	19	23	21	18	18	20
30	19	20	26	21	19	15	22
27	—	—	—	—	—	—	—
28	25	21	26	24	20	19	19
27	24	23	26	24	20	18	24
27	26	24	26	25	19	18	24
	22	23	22	23	16	15	26
	18	23	22	20	13	14	26
	19	22	21	23	14	15	27
	20	20	23	20	15	14	26
		21	22	20	15	15	27
		22	21	20	15	15	24

Weitere Versuche wurden nunmehr mit dem zweiten, noch färbenden Rhodamin 6 G angestellt.

Alle Versuche zeigten, daß mit einer guten Anfärbung der Plastiden mit diesem Farbstoff die Assimilationstätigkeit vollkommen gehemmt

wird. Die Zellen bleiben zwar noch am Leben, assimilieren können aber die Plastiden nicht mehr. Die perturbante Natur der Plastidenfärbung ist also sichergestellt.

5. Zusammenfassung der Ergebnisse.

1. Von den untersuchten Rhodaminen: Rhodamin B, Rhodamin 6 G, Rhodamin S, Sulforhodamin G, Sulforhodamin B, und Violamin R färben nur die beiden in Olivenöl stark löslichen Farbstoffe, nämlich das Rhodamin B und Rhodamin 6 G, die Zellen von *Helodea canadensis* und *Helodea densa* an.

2. Bei *Helodea densa* werden in den Zellen des Blattfeldes der Ober- und Unterseite nur die Plastiden gefärbt. In den Zellen der Mittelrippe, des Blattrandes und in den Schleimidioblasten wird der Farbstoff noch in den Vakuolen entweder diffus oder krümelig gespeichert. Verschieden alte Blätter aus der Knospe zeigen einen deutlichen Längsgradienten der Färbbarkeit an. Es färben sich jeweils nur die Zellen der bereits ausgewachsenen Spitzenhälften junger Blätter. Diese Färbung beruht in unserem Falle nicht auf dem Reduktionsvermögen der noch wachsenden Zellen, da die Rhodamine zu den schwer reduzierbaren Farbstoffen gehören.

3. Bei *Helodea canadensis* wird der Farbstoff außer in der Mittelrippe noch in den oberseitigen Blattfeldzellen sowohl in den Plastiden als auch in den Vakuolen gespeichert, dagegen erfolgt in den unterseitigen Zellen des Blattfeldes nur eine Speicherung in den Plastiden. Plastiden- und Vakuolenfärbung erfolgt bei verschieden alten Blättern aus der Knospe in gesetzmäßiger Art und Weise. Außer dem Längsgradienten tritt hier noch ein Quergradient in Erscheinung.

4. Zum weiteren Ausbau der protoplasmatischen Pflanzenanatomie ist ein vergleichend entwicklungsgeschichtliches Studium der Gewebe unbedingt zu fordern.

5. Vitale und letale Färbungen lassen sich begrifflich nicht unterteilen. Nach eingehender Begründung wird die Forderung erhoben, den Begriff der vitalen Färbung zur näheren Charakterisierung eines Färbeergebnisses fallen zu lassen und ihn nur mehr als Sammelbegriff allgemein zu verwenden. Es wird eine neue Nomenklatur auf Grund der vorliegenden Tatsachen vorgeschlagen:

Eine Färbung, bei der überhaupt keine nachweisbare Schädigung der Zellen eintritt und nach der die Pflanze weiterkultivierbar ist, wird als inturbant bezeichnet. Tritt unmittelbar nach der Färbung keine sichtbare oder nachweisbare Schädigung auf und erfolgt diese nach Weiter-

kultur erst später, so wird eine solche Färbung als turbant bezeichnet. Tritt aber unmittelbar nach der Färbung eine nachweisbare Schädigung bereits auf, so bezeichnet man die Färbung als perturbant.

Inturbante, turbante und perturbante Färbungen fallen unter den Sammelbegriff der vitalen Färbung, der hier im weitesten Sinne des Wortes gebraucht ist.

Ist aber der Farbstoff so giftig, daß er unmittelbar zum Zellentod führt, so bezeichnen wir eine solche Färbung als disturbant.

Als reversibel wird eine Farbstoffspeicherung dann bezeichnet, wenn der Farbstoff die Zelle oder das betreffende Zellorganell wieder verlassen kann. Als irreversibel bezeichnen wir eine Speicherung dann, wenn die Farbstoffbindung so fest ist, daß eine Entfärbung nicht mehr eintritt.

6. Werden mit Rhodamin B vital gefärbte Pflanzen von *Helodea densa* weiterkultiviert, so diffundiert der Farbstoff innerhalb von 24 Stunden aus allen Zellen heraus, und die Pflanze kann ungestört weiterwachsen. Diese Färbung ist sonach inturbant. Sie ist der Idealfall einer Vitalfärbung. Die Speicherung ist reversibel. Mit Rhodamin 6 G gefärbte Pflanzen dagegen zeigen sofort Schädigungserscheinungen. Diese Färbung ist also perturbant.

7. Werden mit Rhodamin B vital gefärbte Pflanzen von *Helodea canadensis* in Leitungswasser weiterkultiviert, so sterben nur die Spitzenzonen der jüngeren Blätter ab. Diese Areale sind sonach turbant gefärbt, da erst nach einiger Zeit (4—6 Tage) eine Schädigung durch den dort irreversibel gebundenen Farbstoff auftritt.

Die alten Blätter dagegen sind inturbant gefärbt und verhalten sich so wie die von *Helodea densa*.

Färbt man dagegen mit Rhodamin 6 G an, so tritt eine augenblickliche Schädigung der Zellen ein. Die Färbung ist sonach perturbant.

8. Es wurde mittels der Blasenzählmethode die Frage geprüft, ob vitalgefärbte Plastiden noch imstande sind, die CO_2-Assimilation durchzuführen. Diese Frage konnte für das Rhodamin B bejaht werden. Das Rhodamin 6 G hingegen hemmt die Assimilationstätigkeit der Plastiden vollständig.

Literatur.

Esteřák, K. B. (1935): Resistenz-Gradienten in *Elodea*-Blättern. Protoplasma **23**, 367. — Grohrock, E. (1935): Über die Umhäutung isolierter Protoplasmastücke. Untersuchungen an *Saprolegnia*, Planta **23**, 313. — Lilienstern, M. (1935): Altersunterschiede von Zellen einiger Wasserpflanzen in bezug auf ihr Reduktionsvermögen. Protoplasma **23**, 86. — Meindl, T. (1934): Weitere Beiträge zur protoplasmatischen Anatomie des *Helodea*-Blattes. Protoplasma **21**, 362. — Moder, A. (1932): Beiträge zur protoplasmatischen Anatomie des *Helodea*-Blattes. Protoplasma **16**, 1. — Pfeffer, W. (1886): Über Aufnahme von Anilinfarbstoffen in lebende Zellen. Untersuch. a. d. Bot. Inst. Tübingen **2**, 179. — Strugger, S. (1934): Beiträge zur Physiologie des Wachstums I. Zur protoplasmaphysiologischen Kausalanalyse des Streckungswachstums. Jahrb. f. wiss. Bot. **79**, 406. — Ders. (1935): Praktikum der Zell- und Gewebephysiologie der Pflanze. Gebr. Borntraeger, Berlin. — Weber, Fr. (1929): Protoplasmatische Pflanzenanatomie. Protoplasma **8**, 291. — Ders. (1932): Unterschiede in der Säureresistenz der *Helodea*-Blattzellen. Protoplasma **16**, 287. —

Einführung in die Allgemeine Pharmakognosie

Von

Dr. Otto Moritz

Dozent für Botanik und Pharmakognosie an der Universität Kiel

Mit 8 Abbildungen im Text

XII, 350 S. gr. 8° 1936 RM 15.—, geb. 16.50

Inhalt: **I. Drogen und Drogenpräparate der Ersatztherapie.** 1. Einleitung und Überblick über die Wirkungsmöglichkeiten von Arzneistoffen. 2.—5. Mittel der Ersatztherapie. Hormone. Fermente. Antikörper. Vitamine. / **II. Drogen der übrigen Therapiegebiete, vor allem der Reizumstimmungs- und Symptomtherapie. A) Anorganische Stoffe und Primärprodukte des Stoffwechsels.** 6. Einleitung und anorganische Drogenbestandteile. 7. Saccharid-drogen und -präparate. 8. Proteine und Drogeninhaltsstoffe und Drogenpräparate. **B. Sekundärprodukte des Stoffwechsels.** 9. Die ersten Umwandlungen der Hexosen als Grundlage der Entstehung von Sekundärprodukten. 10. Drogen mit aliphatischen Säuren. 11. Phloroglucid- und Gerbstoffdrogen. 12.—14. Drogen mit ätherischen Ölen und Harzen. a) Körper vom Phenylpropantypus. b) Terpendrogen. c) Terpenharze und Polyterpenkörper. 15. Alkaloide und verwandte Stoffe. 16. Alkaloide im engeren Sinne. 17. Glykosiddrogen. 18. Drogenbeschaffung und Drogenverarbeitung. / Schlußwort. Autoren- und Sachregister.

Das Gebiet der Pharmakognosie hat durch die neue Studienordnung für Pharmazeuten endlich annähernd diejenige Berücksichtigung gefunden, die es verdient. Vertiefte Ausbildung der Apotheker muß jetzt mithelfen an der Renaissance einer sinnvollen Therapie mit organischen Drogen, deren Wiederbelebung heute von den verschiedensten Seiten gefordert wird.

Jedes naturwissenschaftliche Fach erfordert entsprechend der notwendigen Gliederung des Unterrichts in Vorlesungen und Praktika zweierlei Typen von Lehrbüchern. Während die einen den Stoff so darstellen, wie er im Praktikum zweckmäßig am Mikroskop oder mit chemischer oder physikalischer Apparatur erarbeitet wird, werden andere das Gebiet nach dem System seiner inneren Zusammenhänge als Wissenschaft darstellen. Der Verfasser hat hier eine Einführung der zweiten Art geschaffen, das heißt also ein theoretisches Lehrbuch, das eine Ergänzung zu dem „Lehrbuch der Pharmakognosie" von Karsten und Benecke bildet und die inneren Zusammenhänge der Pharmakognosie darstellen soll.

Anatomie der Pflanzen

Von

Dr. Hans Molisch

emer. o. ö Professor und Direktor des pflanzenphysiolog. Instituts an der Universität Wien

Vierte, neubearbeitete Auflage

Mit 155 Abbildungen im Text

VIII, 160 S. gr. 8° 1936 RM 6.50, geb. 8.—

Inhalt: **I. Die Zelle.** 1. Einleitung. 2. Das Protoplasma. 3. Der Zellkern. 4. Der Zellsaft. 5. Die Zellhaut. 6. Die Entstehung von Zellen. / **II. Die Gewebe.** 1. Das Hautgewebe. 2. Das Grundgewebe. 3. Das Stranggewebe. 4. Das mechanische Gewebesystem. / **III. Die Organe.** 1. Der Thallus. 2. Die Wurzel. 3. Das Blatt. 4. Der Stamm. / **IV. Ziele der Anatomie.** Protoplasmatische Pflanzenanatomie. / Literatur. Sachregister.

Bei der Bearbeitung der 4. Auflage dieses im In- und Auslande gleich gut bekannten Buches war der Verfasser vor allem bestrebt, getreu dem Grundsatz „In der Kürze liegt die Würze" das Manuskript nicht unnötig anschwellen zu lassen und den Text klar und scharf zu fassen. Er wurde sorgfältig durchgesehen und an mehreren Stellen verbessert oder ergänzt. So bei der Besprechung der Ultramikroorganismen, der Viskosität, Vitalfärbung, der Plasmolyse der Chromosomen, der Eiweißkristalle, der Bedeutung des Lignins und der protoplasmatischen Pflanzenanatomie. Die Zahl der Abbildungen wurde um 5 vermehrt.

Verlag von Gustav Fischer in Jena

Die Süßwasserflora Mitteleuropas

Bearbeitet von

J. Brunnthaler †, Wien / Dr. **W. Conrad**, Reeuwijk bei Gouda-Holland / Doz. Dr. **V. Czurda**, Prag / Dr. **E. Dissmann**, Prag / Doz. Dr. **L. Geitler**, Wien / Prof. Dr. **H. Glück**, Heidelberg / Dr. **R. Grönblad**, Hiitola-Finnland / Dr. **W. Heering †**, Hamburg / Dr. **Friedrich Hustedt**, Bremen / Dr. **G. Klug**, Prag / Prof. Dr. **R. Kolkwitz**, Berlin-Steglitz / Dr. **E. Lemmermann †**, Bremen / Dr. **J. Lütkemüller †**, Baden bei Wien / Prof. Dr. **W. Migula**, Eisenach / **W. Mönkemeyer**, Leipzig / Prof. Dr. **A. Pascher**, Prag / Prof. Dr. **H. Paul**, München / Dr. **H. E. Petersen**, Kopenhagen / Prof. Dr. **H. Printz**, Aas bei Oslo / Prof. Dr. **V. Schiffner**, Wien / Prof. Dr. **J. Schiller**, Wien / Hofrat Dr. **A. Zahlbruckner**, Wien

Herausgegeben von

Prof. Dr. A. Pascher, Prag

Heft 1: **Farblose Flagellaten** *(Pantostomatinae, Protomastiginae, Distomatinae, und Formen unsicherer Stellung)* bearbeitet von A. Pascher und E. Lemmermann †. *vergriffen; 2. Aufl., bearbeitet von A. Pascher, in Vorbereitung*

Heft 2A: **Chrysophyceae.** Zweite Auflage, bearbeitet von A. Pascher (entspricht dem ersten Teil des Heftes 2 der ersten Auflage). *in Vorbereitung*

Heft 2B: **Eugleninae, Chloromonadinae. Gefärbte Flagellaten unsicherer Stellung** (entspricht dem anderen Teile des Heftes 2 der ersten Auflage) — *2. Aufl., bearbeitet von A. Pascher u. W. Conrad, in Vorbereitung*

Heft 3: **Cryptophyceae. Desmocontae. Dinophyceae.** Zweite Auflage, bearbeitet von A. Pascher und E. Lindemann. *in Vorbereitung*

Heft 4: **Chlorophyceae I: Volvocales.** Mit dem allgemeinen Teil zu den Chlorophyceen. Von A. Pascher. Mit 451 Abbild. im Text. VI, 506 S. 1927 RM 20.—, geb. 21.50*

Heft 5: **Chlorophyceae II:** *Tetrasporales. Protococcales. Einzellige Gattungen unsicherer Stellung.* Von E. Lemmermann, J. Brunnthaler und A. Pascher. Mit 402 Abbild. im Text. IV, 250 S. 1915 *vergriffen; 2. Aufl. in Vorbereitung*

Heft 6: **Chlorophyceae III:** *Ulotrichales. Mikrosporales. Oedogoniales.* Von W. Heering †. Mit 385 Abbild. im Text. IV, 250 S. 1914 *vergriffen; 2. Aufl., bearbeitet von H. Printz, in Vorbereitung*

Heft 7: **Chlorophyceae IV:** *Siphonales. Siphonocladiales.* Von W. Heering †, Hamburg. Mit 94 Abbild. im Text. IV, 103 S. 1921 RM 2.50, geb. 3.50*

Heft 8: **Desmidiaceae.** Von J. Lütkemüller †, R. Grönblad u. A. Pascher. *in Vorbereitung*

Heft 9: **Zygnemales.** Zweite Auflage, bearbeitet von V. Czurda. Mit 226 Abbild. im Text. V, 222 S. 1932 RM 9.—, geb. 10.—

Heft 10: **Bacillariophyta (Diatomeae).** Zweite Auflage, bearbeitet von Friedr. Hustedt. Mit 875 Abbild. im Text. VIII, 464 S. 1930 RM 18.—, geb. 19.50*

Heft 11: **Heterocontae.** Von A. Pascher. / **Phaeophyta.** Von A. Pascher. / **Rhodophyta.** Von J. Schiller. / **Charophyta.** Von W. Migula. Mit 208 Abbild. im Text. IV, 250 S. 1925 RM 9.—, geb. 10.—*

Heft 12: **Cyanophyceae.** Von L. Geitler. Mit 560 Abbild. im Text. / **Cyanochloridinae = Chlorobacteriaceae.** Von L. Geitler und A. Pascher. Mit 14 Abbild. im Text. VIII, 481 S. 1925 RM 20.—, geb. 21.50*

Heft 13: **Fungi.** Von H. E. Petersen und E. Dissmann. / **Lichenes.** Von A. Zahlbruckner. / **Schizomycetes.** Von R. Kolkwitz. *in Vorbereitung*

Heft 14: **Bryophyta.** *(Sphagnales, Bryales, Hepaticae.)* Zweite Auflage, bearbeitet von H. Paul, W. Mönkemeyer, V. Schiffner. Mit 264 Abbild. im Text. VIII, 252 S. 1931 RM 12.—, geb. 13.50*

Heft 15: **Pteridophyten** und **Phanerogamen.** Von H. Glück. Mit 258 Abbild. im Text. XX, 486 S. Taschenformat. 1936 RM 18.—, geb. 19.50

*Die mit * bezeichneten Preise ermäßigen sich bis auf Widerruf um 10%.*